

Univerzita Karlova

Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Katedra farmakologie a toxikologie



**Interakce vybraných antiretrovirálních léčiv a metylrtuti
s membránovými transportéry placenty**

**Interactions of selected antiretroviral drugs and methylmercury with placental
membrane transporters**

Dizertační práce

Mgr. Lenka Ťupová

Školitel: doc. PharmDr. Martina Čečková, Ph.D.

Hradec Králové 2020

„Prohlašuji, že tato práce je mým původním autorským dílem, které jsem vypracovala samostatně pod vedením své školitelky doc. PharmDr. Martiny Čečkové, Ph.D. Veškerá literatura a další zdroje, z nichž jsem při zpracování čerpala, jsou uvedeny v seznamu použité literatury a v práci řádně citovány. Práce nebyla využita k získání jiného nebo stejného titulu.“

V Hradci Králové dne.....

Lenka Ťupová

Poděkování

Na prvním místě bych chtěla poděkovat své školitelce doc. PharmDr. Martince Čeckové, Ph.D. za provedení celým obdobím mého postgraduálního studia. Díky jejím nárokům a požadavkům v prvních letech jsem se naučila samostatně a zodpovědně pracovat a díky její obrovské podpoře, důvěře a empatii jsem v posledních ročnících mohla ve studiu pokračovat ruku v ruce s mateřstvím.

Děkuji rovněž za finanční podporu, bez které by moje práce nebyla možná. Konkrétně jde o projekty GAUK/C/616216, PRIMUS/20/MED/010, GAČR 17-16169S, SVV 260 549 a EFSA-CDN CZ.02.1.01/0.0/0.0/16_019/0000841. Velmi děkuji Nadačnímu fondu Martiny Roeselové, který podporuje mladé rodiče současně pracující ve vědě za přidělení podpory pro rok 2020.

Dále děkuji naší společně začínající partě Ph.D. studentů Alešovi, Lucce, Sáře a Ondrovi za pomoc a spolupráci v laboratoři a také za krásné zážitky během volně stráveného času.

Speciální samostatné poděkování bych ráda věnovala Aleši Šorfovi za jeho pevné přátelství a také nadání pro statistiku.

Děkuji Ivče Novotné za novozélandské dobrodružství, během kterého mě donutila ve studiu pokračovat, když jsem byla na vážkách.

Děkuji svému tátovi Vaškovi, který si dokončení mého studia velmi přál a podpořil mě v něm.

Obrovské děkuji posílám své blízké rodině, sestrám Kačce a Martince, mamince Janě a babičce Libě za podporu, pomoc a důvěru, že to zvládnou. Také jim děkuji, že společně s babičkou Milčou kdykoliv ochotně hlídali mého syna Dominika, protože bez této pomoci bych nezvládla studium dokončit.

Děkuji Dominičkovi za všechny jeho úsměvy, nadšení a radost, díky nimž dostává život větší rozměr.

Na závěr děkuji Lukáškov, že je tak skvělým partákem do života. Děkuji Ti, že se mnou sdílíš radost z úspěchů, umíš vyslechnout má trápení, a že díky svojí dobrosrdečnosti ze mě děláš lepšího člověka. Tvoje podpora během mého studia byla ta nejcennější.

ABSTRAKT

Univerzita Karlova, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Katedra farmakologie a toxikologie

Kandidát: Mgr. Lenka Ľupová

Školitel: doc. PharmDr. Martina Čečková, Ph.D.

Název dizertační práce: Interakce vybraných antiretrovirálních léčiv a metylrtuti s membránovými transportéry placenty

Zejména ve vyspělých zemích jsou těhotné ženy exponovány velkému množství xenobiotik zahrnující enviromentální polutanty, ale též vědomě užívaná léčiva pro kompenzaci akutních nebo chronických obtíží. Antiretrovirální terapie (ART) je podávána HIV pozitivním těhotným ženám nejen za účelem jejich léčby, ale též kvůli prevenci přenosu viru na vyvíjející se plod. Farmakokinetika mnohých antiretrovirálních léčiv je limitována nebo urychlována řadou ATP-vázajících (ABC) transportérů či transportérů solutů (SLC), z nichž celá řada je přítomna i v lidské placentě. ART je ve vyspělých zemích složena vždy z kombinace 3–4 antiretrovirálních léčiv, výrazně zvyšující riziko rozvoje lékových interakcí na ABC a SLC transportérech. V této práci jsme především pomocí *in vitro* studií na několika typech buněčných linií a metody duální perfúze potkaní a lidské placenty podrobně popsaly zapojení ABC a SLC transportérů, konkrétně MDR1, MRP1, OATP1A2 a OATP1B3, do přestupu antagonisty chemokinového receptoru 5 - maraviroku, přes placentu. Dále jsme studovali vliv ne-nukleosidových inhibitorů reverzní transkriptázy etravirinu a rilpivinu na transport tenofovir disoproxil fumarátu (TDF) a/nebo abakaviru zprostředkovaný MDR1 a BCRP transportéry. Etravirin, který inhibuje pouze BCRP transportér, signifikantně ovlivnil přestup abakaviru i TDF přes monovrstvu MDCKII-BCRP buněk, relevance této interakce pro placentu však byla potvrzena pouze u TDF, nikoli u abakaviru. Rilpivirin inhibující kromě BCRP i MDR1 transportér též prokázal efekt na transport abakaviru *in vitro* a následně zvýšil i jeho orální biodostupnost *in vivo* u potkanů. Interakce přímo na placentární tkáni však nebyla studována. Hlavním zdrojem metylrtuti v lidském organismu je konzumace určitých druhů mořských ryb. Je známo, že metylrtuť vstupuje do placenty a proniká dále do plodu, kde vykazuje neurotoxické působení, avšak informace o toxickém působení metylrtuti přímo na placentární tkáň jsou omezené. V naší studii jsme pomocí transportní studie na MDCKII-MRP1 buňkách poprvé přímo prokázaly, že metylrtuť je ze syncytiotrofoblastu přesunuta dále do placenty prostřednictvím MRP1 transportéru. Útlum exprese MRP1 v placentární buněčné linii HTR-

8/SVneo zvýšil koncentraci metylrtuti v buňkách, a tím došlo ke zvýšení oxidačního stresu a urychlení apoptózy. Tato data prokazují významnou roli MRP1 v ochraně před toxickým působením metylrtuti na placentu.

ABSTRACT

Charles University, Faculty of Pharmacy in Hradec Králové

Department of Pharmacology and Toxicology

Candidate: Mgr. Lenka Ťupová

Supervisor: doc. PharmDr. Martina Čečková, Ph.D.

Title of doctoral thesis: Interactions of selected antiretroviral drugs and methylmercury with placental membrane transporters.

Pregnant women are especially in developed countries exposed to high amount of various xenobiotic including environmental pollutants and drugs. Antiretroviral therapy (ART) is administered to HIV positive pregnant women for the purpose of prevention of HIV mother-to-child-transmission. Pharmacokinetics of many antiretrovirals is limited or enhanced by activity of ATP-binding cassette (ABC) or Solute carrier's transporters, of which many are expressed also in placental tissue. ART therapy usually consists of combination of 3 – 4 antiretroviral drugs, thereby leading to higher risk for development of drug-drug interactions on ABC and SLC transporters. In this study we described influence of non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors etravirin and rilpivirin on BCRP- and MDR1-mediated transport of tenofovir disoproxil fumarate (TDF) and/or abacavir. Etravirin showed potent inhibition of BCRP transporter significantly changing transport of both, TDF and abacavir, across monolayers of MDCKII-BCRP cells. However, in placental tissue, the relevance of this interaction was confirmed only for TDF, but not abacavir. Besides etravirin, rilpivirin inhibits also MDR1 transporter, suggesting this interaction as responsible causative mechanism for increased oral bioavailability of abacavir after oral administration in rat. Further, detailed transfer of chemokine receptor 5 antagonist maraviroc across placenta was described in this study which revealed involvement of four placental transporters: MDR1, MRP1, OATP1A2 and OATP1B3.

Consumption of certain type of sea fish is the main way of exposure of methylmercury in pregnant women. Methylmercury enters placenta and permeates through the tissue to the fetus, causing neurotoxic effects. The toxic activity of methylmercury directly in placental tissue is still uncertain. Performing *in vitro* transport assay in MDCKII-MRP1 cells, we brought for the first time the direct proof that methylmercury interacts with human MRP1. This transporter thereby seems to be responsible for driving of methylmercury from syncytiotrophoblast deeper into the placental tissue. MRP1 knockout in placental cell line HTR-8/SVneo induced by siRNA further caused increase of intracellular methylmercury concentration resulting in higher

oxidative stress and earlier cellular apoptosis. This data proves that MRP1 play an important role in placental protection against toxic effects of methylmercury.

OBSAH

1	SEZNAM ZKRATEK	10
2	ÚVOD	11
3	TEORETICKÁ ČÁST	12
3.1	Transportní systémy organismu.....	12
3.1.1	ABC efluxní transportéry	12
3.1.2	SLC transportéry	13
3.1.3	Interakce léčiv na lékových transportérech	13
3.2	Placenta.....	14
3.2.1	Placentární transportéry.....	15
3.3	Farmakoterapie těhotných žen.....	17
3.4	Antiretrovirální terapie těhotných žen	17
3.4.1	Interakce antiretrovirální léčiv s placentárními transportéry	19
3.4.2	Maravirok	20
3.5	Expozice těhotných žen enviromentálním polutantům	22
3.5.1	Metylrtuť	22
4	CÍLE PRÁCE.....	24
5	SEZNAM ODBORNÝCH PUBLIKACÍ V ZAHRANIČNÍCH ČASOPISECH A PODÍL KANDIDÁTKY NA JEDNOTLIVÝCH PRACÍCH	25
5.1	Etravirine inhibits ABCG2 drug transporter and affects transplacental passage of tenofovir disoproxil fumarate	25
5.2	MDR1 and BCRP Transporter-Mediated Drug-Drug Interaction between Rilpivirine and Abacavir and Effect on Intestinal Absorption	25
5.3	Interactions between Maraviroc and the ABCB1, ABCG2, and ABCC2 Transporters: An Important Role in Transplacental Pharmacokinetics.....	26
5.4	Interplay of drug transporters P-glycoprotein (MDR1), MRP1, OATP1A2 and OATP1B3 in passage of maraviroc across human placenta.....	26

5.5	In vitro function and in situ localization of Multidrug Resistance-associated Protein (MRP)1 (ABCC1) suggest a protective role against oxidative stress in the human placenta.....	27
6	KOMENTÁŘE K JEDNOTLIVÝM PUBLIKACÍM.....	28
6.1	Etravirine inhibits ABCG2 drug transporter and affects transplacental passage of tenofovir disoproxil fumarate	28
6.2	MDR1 and BCRP Transporter-Mediated Drug-Drug Interaction between Rilpivirine and Abacavir and Effect on Intestinal Absorption	29
6.3	Interactions between Maraviroc and the ABCB1, ABCG2, and ABCC2 Transporters: An Important Role in Transplacental Pharmacokinetics.....	30
6.4	Interplay of drug transporters P-glycoprotein (MDR1), MRP1, OATP1A2 and OATP1B3 in passage of maraviroc across human placenta.....	31
6.5	In vitro function and in situ localization of Multidrug Resistance-associated Protein (MRP)1 (ABCC1) suggest a protective role against oxidative stress in the human placenta.....	33
7	SHRNUTÍ A ZÁVĚR	34
8	REFERENCE.....	37
9	PREZENTACE DAT NA ODBORNÝCH KONFERENCÍCH.....	46
9.1	Ústní prezentace	46
9.2	Posterové prezentace	47
10	OCENĚNÍ	49
11	SEZNAM PŘÍLOH	50

1 SEZNAM ZKRATEK

ABC	ATP-binding cassette transporters, ATP-vázající transportéry
AIDS	Acquired Immune Deficiency Syndrome, syndrom získané imunodeficiency
ART	antiretrovirální terapie
BCRP/ABCG2	breast cancer resistance protein, protein rezistence nádoru prsu
CCR5	chemokinový receptor typu 5
EMA	European Medicines Agency, Evropská léková agentura
FDA	Food and Drug Administration, Americký úřad pro dohled nad potravinami a léčivy
HIV	Human Immunodeficiency Virus, virus lidské imunodeficiency
ITC	International Transporter Consortium, Mezinárodní transportérové konsorcium
SLC	solute carrier's transporters, transportéry solutů
MDCKII	Madin-darby canine kidney buněčná linie
MDR1/ABCB1	P-glykoprotein
MRPs/ABCCs	Multidrug resistance associated proteins, proteiny asociované s mnohočetnou lékovou rezistencí
OCTN2	organic cation/carnitine transporter 2
OATP	organic anion transporting polypeptide, polypeptid transportující organické anionty
RT	reverzní transkriptáza
TDF	tenofovir disoproxil fumarát
WHO	World Health Organisation, Světová zdravotnická organizace

2 ÚVOD

V průběhu těhotenství je každá žena vystavena vlivům nespecifických xenobiotik v jejím okolí, které může do organismu přijímat vědomě, jako je tomu v případě léčiv nebo velmi často nevědomky ze znečištěného ovzduší či kontaminované potravy [1, 2].

Farmakologická léčba je indikována pro akutní a chronickou léčbu těhotné ženy (výjimečně i plodu) tak, aby byla minimalizována rizika negativního dopadu užitých léčiv na plod a zároveň byla zajištěna optimální kompenzace zdravotních obtíží, které v případě zanedbání mohou samy o sobě vést k poškození plodu nebo k předčasnému ukončení těhotenství [2-7]. Speciálním případem je situace, kdy z podání léčiv profituje matka i plod, jako je tomu v případě prevence přenosu viru lidské imunodeficiency (HIV) z pozitivní těhotné ženy na vyvíjející se dítě [8, 9]. Dle posledních statistických údajů (konec roku 2018) Světové zdravotnické organizace (WHO) podstupuje přes 80 % těhotných žen pozitivních na HIV antiretrovirální terapii (ART) [10]. Přestože podání antiretrovirotik snižujících riziko nákazy plodu je během těhotenství dobře tolerováno a výrazně převyšuje riziko potenciálních nežádoucích účinků na plod, jsou známy případy méně či více závažných negativních dopadů na plod dávaných do souvislosti právě s anti-HIV terapií [8]. ATP-vázající (ABC) lékové transportéry a transportéry solutů (SLC) ovlivňují farmakokinetiku řady antiretrovirálních léčiv na úrovni absorpce, distribuce i exkrece a mohou významně ovlivnit i míru přestupu těchto látek přes placentu k plodu [11-18], zejména při kombinované terapii, kdy může docházet k rozvoji lékových interakcí na těchto transportérech [19]. Od zvýšeného placentárního přestupu lze sice očekávat lepší profylaxi plodu *in utero*, na druhou stranu může dojít k expozici plodu toxickým dávkám léčiva. Proto důkladná znalost přestupu antiretrovirálních léčiv přes placentu a zapojení ABC a SLC transportérů do tohoto procesu přispívá k zefektivnění a zbezpečnění léčby těhotných žen za účelem prevence přenosu HIV na plod [8, 19, 20].

Na rozdíl od léčiv, enviromentální polutanty mohou těhotné ženy vdechovat ze vzduchu (smog, plíseň) nebo je přijímat v kontaminovaném jídle (pesticidy) nevědomky, čímž vystavují plod potenciálnímu poškození [1]. Expozice plodu metylrtuť během těhotenství je spojována s konzumací určitých druhů mořských ryb (tuňák, žralok, makrela) v nichž se metylrtuť nadměrně kumuluje [21, 22]. Již delší dobu je známo, že metylrtuť vstupuje do placenty pomocí aminokyselinových transportérů a postupuje dále k plodu, kde působí neurotoxicky [23-26]. Ovšem její toxický vliv přímo na placentární tkáň a mechanismus přestupu do hlubších vrstev placenty není zcela objasněn.

3 TEORETICKÁ ČÁST

3.1 Transportní systémy organismu

Nepřetržitý transport živin, signálních molekul či metabolitů v organismu je zásadní pro homeostatické fungování lidského těla. Mechanismus přestupu látek přes buněčné membrány je z velké míry určován velikostí molekuly, její rozpustností a elektrickým nábojem. Malé lipofilní a neutrální molekuly přestupují přes membrány především prostřednictvím pasivní difúze řízené koncentračním gradientem. Přenos hydrofilních a ionizovaných látek je zajištěn souhrou membránových transportních proteinů, které mohou urychlovat průběh difúze (tzv. facilitovaná difúze) nebo zprostředkovávat aktivní transport překonávající koncentrační gradient za současné spotřeby energie [27, 28]. Přestože pasivní difúze je stále považována za nejčastější mechanismus přestupu, transportním systémům je v posledních několika dekádách věnováno čím dál více pozornosti. Na jejich podkladě je možné vysvětlit řadu patologických příčin různých nemocí (např. při poruše transportu esenciálních látek) či zesílení nežádoucích účinků nebo selhání terapie (díky ovlivnění farmakokinetiky léčiv) [28-30].

Transportní proteiny jsou obecně řazeny do dvou velkých základních nadrodin: ABC a SLC transportéry [31].

3.1.1 ABC efluxní transportéry

ABC efluxní transportéry fungují jako transmembránové pumpy, které využívají energii uvolněnou během hydrolýzy ATP pro aktivní odčerpávání svých substrátů ven z buněk. Zajišťují tak ochranu tkáně před poškozením a rozvojem patologických procesů [32, 33]. V kontextu s touto funkcí jsou jejich substráty často endogenní zplodiny metabolismu, odpadní látky či exogenně přijímaná xenobiotika zahrnující enviromentální polutanty či léčiva [34, 35].

Existence ABC transportérů byla objevena v souvislosti s rezistencí nádorů na podávané léky. Nádorové buňky vykazují ve své buněčné membráně vysokou expresi ABC efluxních transportérů, které dokáží vychytávat léčiva rozmanité struktury a pumpovat je vně buněk, čímž snižují obsah cytotoxických léčiv v nádorových buňkách pod terapeutickou koncentraci [36, 37].

Později byla fyziologická přítomnost ABC transportérů potvrzena v podstatě ve všech orgánech, kde regulují absorpci (např. tenké střevo, plíce), limitují distribuci do citlivých tkání

(např. hematoencefalická bariéra, hemato-testikulární bariéra, placenta) a urychlují exkreci (játra, ledviny) exogenně přijatých xenobiotik ve snaze ochránit organismus před jejich potenciálním škodlivým působením [31].

Nejznámějšími zástupci rodiny ABC efluxních transportérů jsou P-glykoprotein (MDR1, ABCB1), „breast cancer resistance protein“ (BCRP, ABCG2) a proteiny asociované s mnohočetnou lékovou rezistencí (MRPs, ABCCs), z nichž pravděpodobně nejlépe prostudovanými transportéry jsou MRP1 a MRP2 [35, 37].

3.1.2 SLC transportéry

Nadrodina SLC transportérů je velmi rozsáhlá a rozmanitá skupina proteinů zajišťujících obousměrný přenos především endogenních látek a nutrientů. Jejich aktivita a směr transportu může být závislá např. na dodávce sodíku či změnách pH v místě působení. Exprese různých SLC transportérů byla potvrzena v podstatě na všech místech organismu v závislosti na konkrétních potřebách dané tkáně/orgánu [28, 29, 38, 39]. Mezi jejich substráty patří i celá řada léčiv, a to především léčiva se strukturou podobnou endogenním substrátům, jako například nukleosidová antivirotika (ENT, CNT) [13, 40, 41] či alfa-metyldopa (aminokyselinové transportéry LAT1 a 2) [42], ale i léčiva zcela jiné struktury [38].

3.1.3 Interakce léčiv na lékových transportérech

Postupem času se ukázalo, že vliv ABC a SLC transportérů na farmakokinetiku léčiv může být tak výrazný, že se promítne i do klinické praxe, a to zejména v případě podání více léčiv zároveň. Při současném podání dvou a více léčiv, které jsou substráty stejného transportéru totiž dochází ke vzájemné kompetici léčiv o tento transportér. Navíc mnohá léčiva byla odhalena jako silné inhibitory ABC i SLC transportérů, výrazně limitující jejich transportní funkci, a tedy i farmakokinetiku přenášených substrátů. Některé terapeutické látky mohou působit též jako induktory genové exprese transportérů ovlivňujících následnou tvorbu funkční proteinové struktury a celkovou transportní aktivitu [43-45]. Všechny tyto faktory tvoří z ABC i SLC transportérů ideální místo pro rozvoj lékových interakcí. Tyto interakce mohou zvyšovat nebo snižovat hladiny léků v krvi a cílových orgánech, což se může negativně promítnout na indikované terapii ve smyslu rozvoje toxických nežádoucích účinků léčiv či selhání terapie. Na druhé straně mohou být lékové interakce využity i pozitivně např. pro zvrácení nádorové

rezistence, urychlení exkrece toxických látek z organismu, zvýšení distribuce léčiv do těžko proniknutelných orgánů zasažených infekcí či prenatální léčbu plodu [43]. Na závažnost lékových interakcí upozornilo Mezinárodní transportérové konsorcium (ITC) již v roce 2010 během svého prvního shromáždění [46] a o tři roky později publikovalo své doporučení, tzv. „white paper“ pro správné nastavení a hodnocení *in vitro* a *in vivo* pre-klinických studií zaměřených na klinicky relevantní interakce léčiv na ABC a SLC transportérech [47]. Tyto poznatky jsou pravidelně aktualizovány a interakce na stále více transportérech jsou zohledňovány [45, 48].

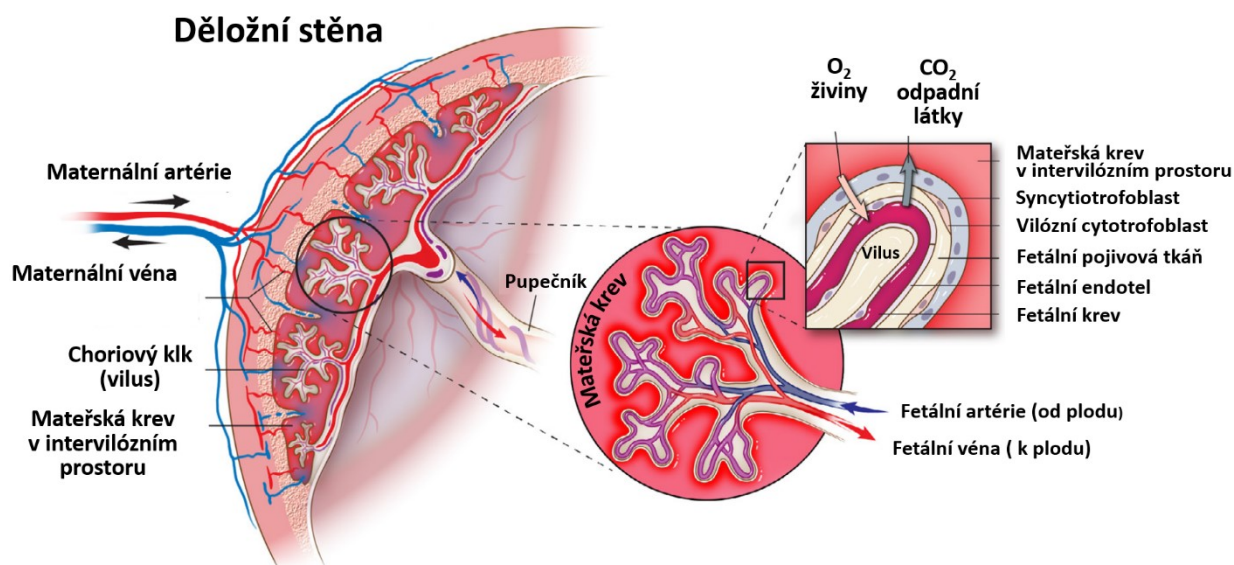
Na doporučení vydané ITC následně zareagovaly i vládní agentury dohlížející na bezpečné užívání léčiv jako jsou Food and Drug Administration (FDA) a European Medicines Agency (EMA) a vyžadují prověření lékových interakcí na ABC a SLC transportérech před uvedením nových léčiv do praxe. [49, 50].

3.2 Placenta

Placenta je dočasný, avšak plnohodnotný multifunkční orgán, který se utváří na začátku těhotenství jako komunikační jednotka mezi matkou a vyvíjícím se plodem. Původně přijímané dogma označující placentu za pouhou bariéru na jejímž rozhraní dochází k oboustranné výměně nutričních a odpadních látek, je již dlouho překonáno. K placentě se v současnosti přistupuje jako k aktivní jednotce s vlastním metabolismem či produkcí hormonů a signálních molekul významně přispívající k řízení fyziologického těhotenství a vývoje plodu [51, 52].

Z morfologického hlediska lze placentu rozdělit na plodovou a mateřskou část. Mateřská strana má houbovitou strukturu a je zřetelně rozdělená na ohraničené plochy zvané kotyledony, které tvoří oběhové jednotky placenty. Plodová strana je krytá tenkou blánou – amniem, pod níž se rozbíhá spleť pupečnickových vén a artérií. Ty se dále rozvětvují a pronikají až do placentárních kotyledonů, v nichž se splétají do choriiových klků, a jsou zde omývány mateřskou krví. Choriiové klky jsou tvořeny vrstvou trofoblastů, které na povrchu splývají a formují se do mnohojaderného útvaru zvaného syncytiotrofoblast, jenž je považován za jednu z nejdůležitějších funkčních a ochranných jednotek při feto-maternální výměně. Za touto vrstvou je placentární mezibuněčné intersticiium prostoupené fetálními kapilárami, ve kterých proudí fetální krev. V některých místech dochází k výraznému ztenčení intersticiálního prostoru a tím k těsnému nalehnutí syncytiotrofoblastu přímo na fetální cévu. Toto zúžení se

nazývá vasculosyncytiální membrána, a právě v tomto místě dochází pravděpodobně k nejintenzivnější látkové výměně mezi matkou a plodem [51, 53, 54].



Obrázek 1: Řez placentou. Převzato a přepracováno dle Wu and Bayer (2018) [53].

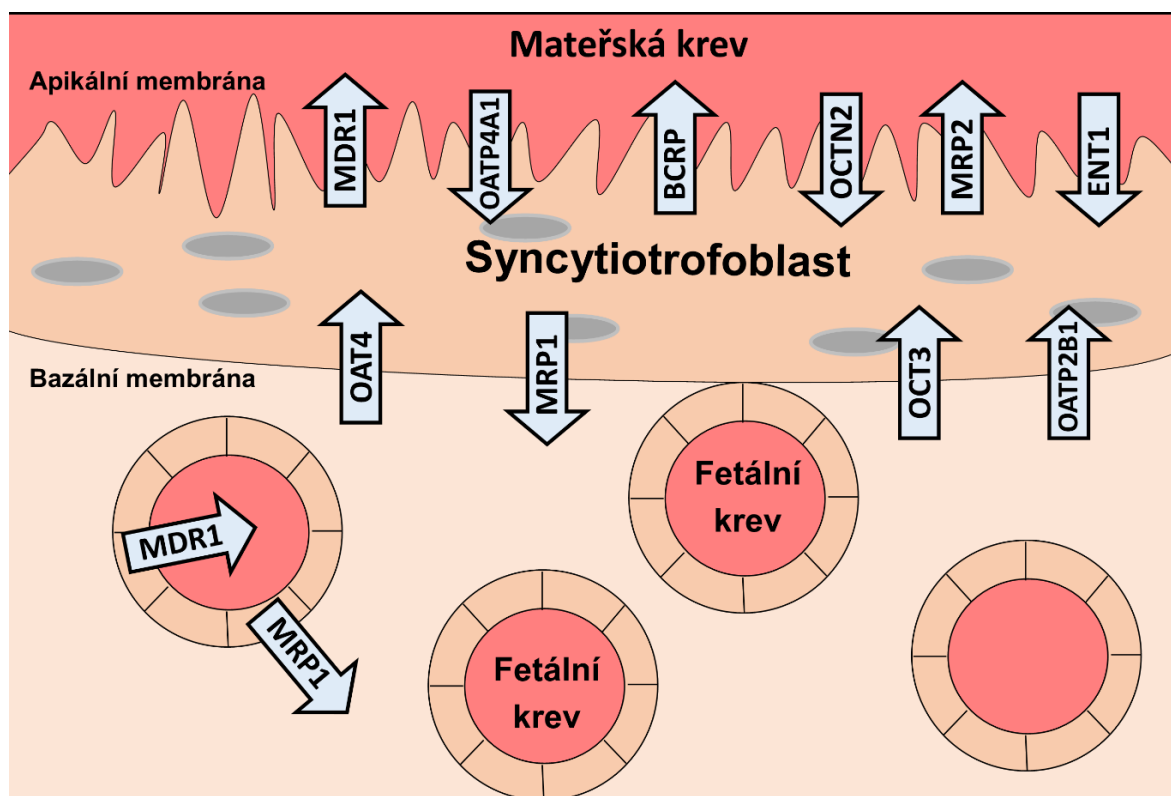
3.2.1 Placentární transportéry

Placentární transport je stejně jako ve všech částech organismu zprostředkován zejména pasivní difúzí, facilitovanou difúzí či aktivním transportem [55, 56].

Významná exprese ABC transportérů byla mnohokrát potvrzena v apikální mikrovilózní membráně syncytiotrofoblastu omývané mateřskou krví vstříkovanou do intervillózních prostorů ze spirálních artérií. Důležitým zástupcem je bezpochyby MDR1, známý pro svou schopnost rozeznávat a následně vracet širokou škálu xenobiotik zpět do mateřské krve. Tím omezuje jejich přestup přes placentu a přispívá k ochraně plodu před potenciálním poškozením [57, 58]. Ochranná aktivita MDR1 se dá očekávat především v prvním a druhém trimestru těhotenství, kdy je jeho exprese v placentě nejvyšší. Směrem k blížícímu se porodu dochází ke ztenčování trofoblastové vrstvy v placentě a úbytku MDR1 [59]. Jeho ochranná funkce je pak pravděpodobně doplněna aktivitou dalších efluxních transportérů v apikální membráně – BCRP [58, 60] a MRP2 [61]. Zejména BCRP transportér, jehož funkce a lokalizace se v organismu často překrývá s MDR1, je v lidské placentě hojně zastoupen [60]. Kromě transportu xenobiotik [62, 63] bylo popsáno i jeho zapojení do regulace syntézy placentárních estrogenů [64] či protekce trofoblastu před cytokiny indukovanou apoptózou skrz modulaci ceramidové signalizace [65].

ABC transportéry jsou dále přítomny i v bazální membráně syncytiotrofoblastu orientované směrem k plodu, a proto je na ně pohlíženo stále trochu kontroverzně. Nejvýznamnějším zástupcem je MRP1, jehož funkce zde stále není zcela objasněna [66, 67]. Kromě syncytiotrofoblastu byla potvrzena vysoká exprese MRP1 též v bazolaterální (abluminální) membráně fetálních kapilár [67, 68]. Zde pravděpodobně přispívá ve spolupráci s dalšími transportéry k očišťování fetální krve od zplodin metabolismu (především ve formě konjugátů s glutathionem a glukuronidem) a odpadních látek, např. bilirubinu [69-72]. Mimo to je schopný přenášet i řadu léčiv různé struktury [72, 73].

Mezi nejvýznamněji exprimované zástupce SLC transportérů v placentě patří karnitinový transportér OCTN2 (SLC22A5), nukleosidový transportér ENT1 (SLC29A1) a aniontový transportér OATP4A1 (SLCO4A1) na apikální straně syncytiotrofoblastu [74-76] a dále OATP2B1 (SLCO2B1), OAT4 (SLC2A11) a kationtový transportér OCT3 (SLC22A3) na opačně orientované bazální membráně [64, 77, 78]. Tyto transportéry fungují většinou obousměrně a jsou zapojeny do přenosu esenciálních látek a živin z mateřské krve, ale i metabolických produktů vzniklých v syncytiotrofoblastu do krve fetální. V opačném směru přispívají i k odvodu odpadních látek a metabolitů [69, 79].



Obrázek 2: Lokalizace nejvýznamnějších ABC a SLC transportérů v placentě. Zpracováno dle Staud et al. (2012) a Dallmann et al. (2019) [20, 80].

3.3 Farmakoterapie těhotných žen

Z hlediska farmakoterapie je období těhotenství speciální situací vyžadující zvýšenou pozornost a obezřetnost. Vzhledem k délce gravidity užije téměř každá žena během těhotenství alespoň jeden lék za účelem léčby akutních obtíží jako je například bolest, průjem nebo infekční onemocnění či z důvodu rozvoje onemocnění souvisejících s graviditou jako např. těhotenský diabetes mellitus a těhotenská hypertenze [3, 4, 6, 81, 82]. Ženy trpící chronickým onemocněním např. epilepsií, diabetem nebo roztroušenou sklerózou, pak musejí i v případě otěhotnění pokračovat v léčbě kompenzující tyto obtíže [5, 6, 83]. Ve speciálních případech je cílem farmakoterapie také prenatální léčba plodu zahrnující například podání glukokortikoidů těhotné ženě za účelem dozrání plic plodu při hrozícím předčasném porodu či podání antiarytmik pro kompenzaci prenatální tachykardie [7, 84]. Poslední situací je léčba obou, matky i plodu, spojovaná především s léčbou a prevencí HIV infekce [85].

Všechny výše popsané situace spojuje nutnost znalosti přestupu podávaných léčiv z mateřské krve přes placentu do krve fetální. Zatímco v případech, kdy je léčena pouze matka, je vítán minoritní transfer léčiv přes placentu, v situacích zahrnující též léčbu plodu je nutno dosáhnout po placentárním přestupu dostatečných terapeutických koncentrací ve fetální krvi. Farmakokinetický profil řady léčiv může být během těhotenství významně ovlivněn v důsledku hormonálních změn, zvýšení distribučního objemu, výkyvů arteriálního tlaku či zrychleného metabolismu. V samotném transferu léčiv přes placentu pak hrají významnou roli lékové transportéry přítomné v placentě [20, 86].

3.4 Antiretrovirální terapie těhotných žen

ART je určena pro léčbu pacientů pozitivních pro výskyt viru HIV. Virus HIV je vysoce flexibilní a podléhá rychlým mutacím, které vedou ke snížené účinnosti podávaného léčiva ústícímu často v selhání terapie. Z tohoto důvodu je ART ve vyspělých zemích sestavena vždy z kombinace 3–4 antiretrovirálních léčiv poskytujících dlouhodobou ochranu před rozvojem terminální fáze onemocnění zvané „Acquired Immunodeficiency Syndrom“ (AIDS) [11].

Významnou cestou nákazy virem HIV je přenos z infikované matky na dítě. V současné době je celosvětově registrováno přes 1,7 milionů dětí pozitivních na virus HIV [10]. K přenosu dochází nejčastěji během kojení a vaginálního porodu, nicméně virus HIV je schopený přestupovat i přes lidskou placentu a infikovat plod *in utero*. Z takto časně infikovaných dětí se více než 80 % nedožije pátých narozenin [87].

Správné nastavení ART podávané v průběhu těhotenství a doplňujících preventivních opatření (porod císařským řezem, umělá mléčná výživa, aj.) snižuje pravděpodobnostní riziko přenosu infekce z matky na dítě z 50 % pod 1 %, a to díky snížení virového zatížení v krvi matky na minimum. K prevenci nákazy plodu pravděpodobně přispívá též expozice plodu antiretrovirálním léčivům po jejich přestupu přes placentu [9].

Ještě v nedávné době byla doporučení pro indikaci ART během těhotenství poměrně přísná a skládala se především ze starších antiretrovirálních léčiv s dlouhou tradicí a dobře popsáním bezpečnostním profilem během těhotenství. Avšak dle aktuálních doporučení zveřejněných na oficiálním webu AIDSinfo se nově doporučuje indikovat tato, v těhotenství schválená léčiva, pouze ženám, které před otěhotněním neužívaly žádnou ART. Naopak ženám, které byly léčeny již před těhotenstvím a vykazují nízké virové zatížení v krvi a tím dobrou kompenzaci infekce, je nově doporučováno pokračovat v nastavené léčbě s výjimkou léčiv s přímým důkazem o negativním dopadu na vyvíjející se plod nebo průběh infekce (Tab. 1) [8].

Tabulka 1: Přehled doporučení pro podání ART léčiv HIV pozitivním těhotným ženám

ART léčivo	Doporučení pro těhotnou ženu nově začínající s užíváním ART	Doporučení pro těhotnou ženu s předchozí ART léčbou vykazující dobrou kompenzaci nemoci
Nukleosidové inhibitory reverzní transkriptázy		
abakavir	doporučený	pokračovat
emtricitabin	doporučený	pokračovat
lamivudin	doporučený	pokračovat
tenofovir disoproxil fumarát	doporučený	pokračovat
zidovudin	alternativní	pokračovat
tenofovir alafenamid	nedostatek dat	pokračovat
Ne-nukleosidové inhibitory reverzní transkriptázy		
efavirenz	alternativní	pokračovat
rilpivirin	alternativní	pokračovat
doravirin	nedostatek dat	nedostatek dat
etravirin	nedoporučený	pokračovat

nevirapin	nedoporučený	pokračovat
Inhibitory proteázy		
atazanavir/r¹	doporučený	pokračovat
darunavir/r¹	doporučený	pokračovat
lopinavir/r¹	alternativní	pokračovat
atazanavir/c²	nedoporučený	pokračovat s omezením
darunavir/c²	nedoporučený	pokračovat s omezením
Inhibitory integrázy		
dolutegravir	doporučený	pokračovat
ralvitegravir	doporučený	pokračovat
bictegravir	nedostatek dat	nedostatek dat
elvitegravir/c²	nedoporučený	pokračovat s omezením
Inhibitory vstupu		
maravirok³	nedoporučený	pokračovat
enfuvirtid	nedoporučený	pokračovat
ibalizumab	nedostatek dat	nedostatek dat

1) Farmakokinetika podpořená současným podáním ritonaviru, 2) Farmakokinetika podpořená současným podáním cobicistatu, 3) v případech špatné tolerance nebo projevu rezistence na dosavadní léčbu je doporučeno zařadit maravirok do kombinované léčby těhotných žen i bez zkušenosti s jeho užíváním před otěhotněním. Přepřacováno dle AIDSinfo-Perinatal Guideline, Table 5 [8].

3.4.1 Interakce antiretrovirální léčiv s placentárními transportéry

Řada antiretrovirálních léčiv byla odhalena a popsána pro své interakce s lékovými transportéry, které shrnula a popsala ve své přehledové publikaci Kis et al. (2010) [15]. Mnoho z těchto transportérů je exprimováno též v placentě [20] a bylo zajímavou otázkou, zda uváděné interakce jsou relevantní i pro placentární tkáň. Během uplynulých let se naše Skupina Experimentální farmakologie a lékových interakcí zaměřila na toto téma a studovala interakce antiretrovirálních léčiv s lékovými transportéry přímo na placentárních modelech. První fáze studií byla zaměřena na transplacentární farmakokinetiku a zapojení ABC transportérů do přestupu léčiv s dlouhou tradicí užívání během gravidity, konkrétně tenofovir disoproxil fumarátu (TDF), abakaviru, zidovudinu a lamivudinu. Kromě lamivudinu byla u všech léčiv popsána duální afinita k MDR1 a BCRP transportérům *in vitro* korelující, především v případě

TDF, se signifikantně vyšším přestupem ve feto-maternálním směru během *in situ* duální perfúze potkaní placenty [16-18]. Následná studie potvrdila, že transplacentární přestup TDF může být též ovlivněn současným podáním etravirinu, který vykazuje silný inhibiční potenciál k BCRP transportéru. Oproti TDF, ABC transportéry nehrály zásadní roli v transportu abakaviru přes placentu, což bylo částečně objasněno zapojením protichůdně orientovaného nukleosidového ENT1 transportéru zajišťujícího influx abakaviru přes apikální membránu do syncytiotrofoblastu [13]. Též transport lamivudinu se zdá být ovlivněn spíše příspěvkem SLC transportérů (MATE1) než ABC transportérů [12]. Poslední vlna experimentů byla zaměřena na novější antiretrovirální léčiva, která v poslední době dostávají v ART těhotných žen stále více prostoru (viz. publikace č. 3 a 4 komentované v této práci).

3.4.2 Maravirok

Maravirok byl schválen FDA roku 2007 pro kombinovanou léčbu HIV infekce u dospělých pacientů a o několik let později i u dětí starších dvou let [11, 88]. Vzhledem k velmi nízké toxicitě maraviroku, probíhá v současné době též klinická studie zaměřená na podávání maraviroku novorozencům, naznačující prozatím příznivé výsledky [89].

Mechanismus účinku

Mechanismem účinku se maravirok řadí v rámci antiretrovirálních léčiv do farmakodynamické skupiny inhibitorů vstupu HIV do buňky [90]. Konkrétně blokuje maravirok vazbu mezi glykoproteinem 120 (gp 120) na povrchu HIV a chemokinovým receptorem typu 5 (CCR5), který se nachází na povrchu Th-lymfocytů a slouží jako jeden z možných koreceptorů usnadňujících průnik HIV do hostitelské buňky [90-92]. V některých případech preferuje virus HIV pro vazbu s gp 120 koreceptor CXCR4 nebo alternativně oba zmíněné receptory [91]. Před zahájením podávání maraviroku pacientovi je tudíž nutné otestovat preferenci HIV (tzv. tropismus) pro vazbu na CCR5 nebo CXCR4 receptor, jelikož výhradně pacienti nakažení R5-tropním typem HIV mohou z léčby maravirolem profitovat [90, 93].

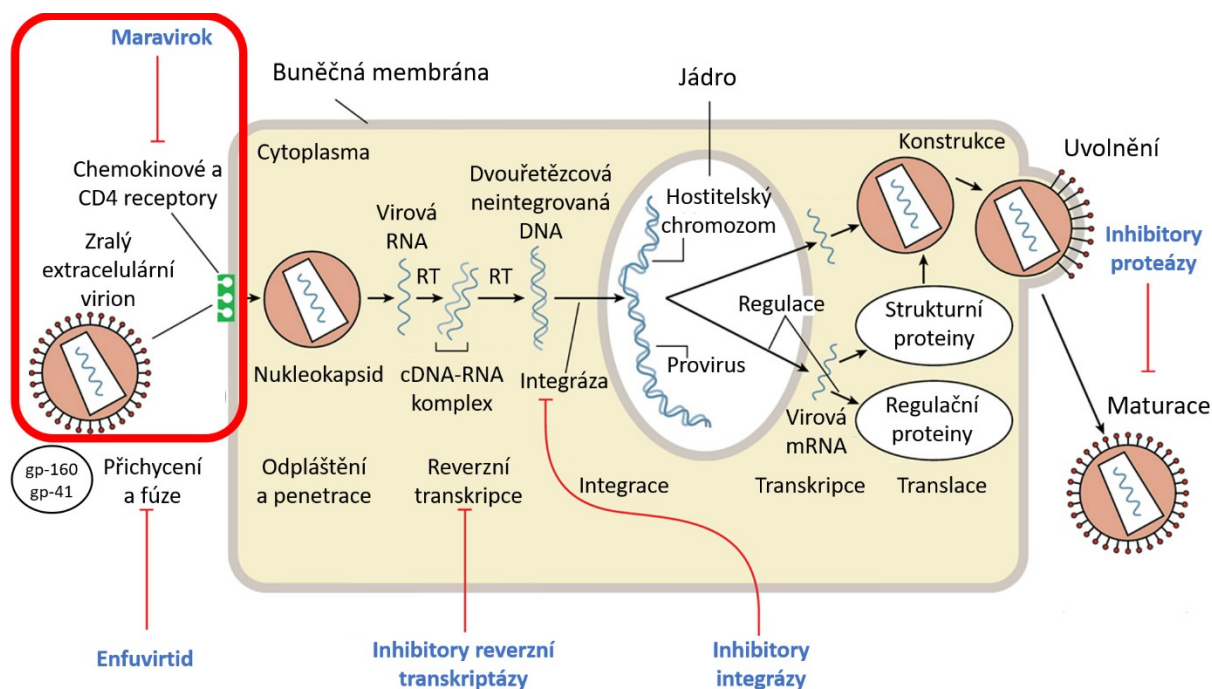
Farmakokinetika

Biodostupnost maraviroku je udávána okolo 23 % při podání 100 mg dávky se zvýšením až na 33 % při dávce 300 mg. Až 76 % se váže na plasmatické bílkoviny, převážně na albumin a α -kyselé glykoprotein. Metabolizace je zajištěna především cytochromem P450 CYP3A4, a proto může být koncentrace maraviroku v krvi významně ovlivněna současně podávanými léčivy, které blokují nebo indukují tento enzym [94]. Mimo to je maravirok potvrzeným substrátem MDR1 a OATP1B1 transportérů, které mohou též ovlivnit absorpci, distribuci a eliminaci maraviroku [95-97]. Vzniklé metabolity nevykazují žádnou protivirovou aktivitu a nejvýznamnějším zástupcem je sekundární amin tvořený N-dealkylací. Biologický poločas se pohybuje mezi 14–18 hod. Maravirok je převážně vylučován stolicí a až 33 % maraviroku je vyloučeno v nezměněném stavu [94].

Testování maraviroku pro off-label indikace

Mechanismus účinku udávající maraviroku jeho anti-HIV aktivitu je v rámci skupiny antiretrovirálních léčiv poněkud výjimečný (Obr. 3). Zatímco reverzní transkriptáza (RT), integráza či proteáza blokováné ostatními antiretrovirálními léčivy jsou esenciální enzymy charakteristické pro virus HIV [93]; CCR5 receptor blokováný maravirokem je fyziologicky přítomen na povrchu většiny leukocytů a je zapojen do složité komunikační sítě chemokinového systému [98].

Během léčby HIV pacientů maravirokem byla pozorována řada příznivých účinků na souběžná onemocnění (např. ateroskleróza), která nijak nesouvisejí s progresí HIV infekce [99, 100]. Tato zjištění vedla k testování maraviroku pro jeho účinnost v řadě dalších autoimunitních či nádorových onemocnění [101]. Velmi pozitivní účinky maraviroku byly zaznamenány např. u roztroušené sklerózy [100, 102] nebo rakoviny tlustého střeva [103, 104] či kostních metastáz rakoviny prsu [105]. Je tedy možné, že do budoucna najde maravirok, kromě terapie HIV, mnohem širší využití i v dalších oblastech.



Obrázek 3: Životní cyklus viru HIV a mechanismus účinku antiretrovirálních léčiv. Převzato a přepracováno dle Brunton et al. (2018) [106].

3.5 Expozice těhotných žen enviromentálním polutantům

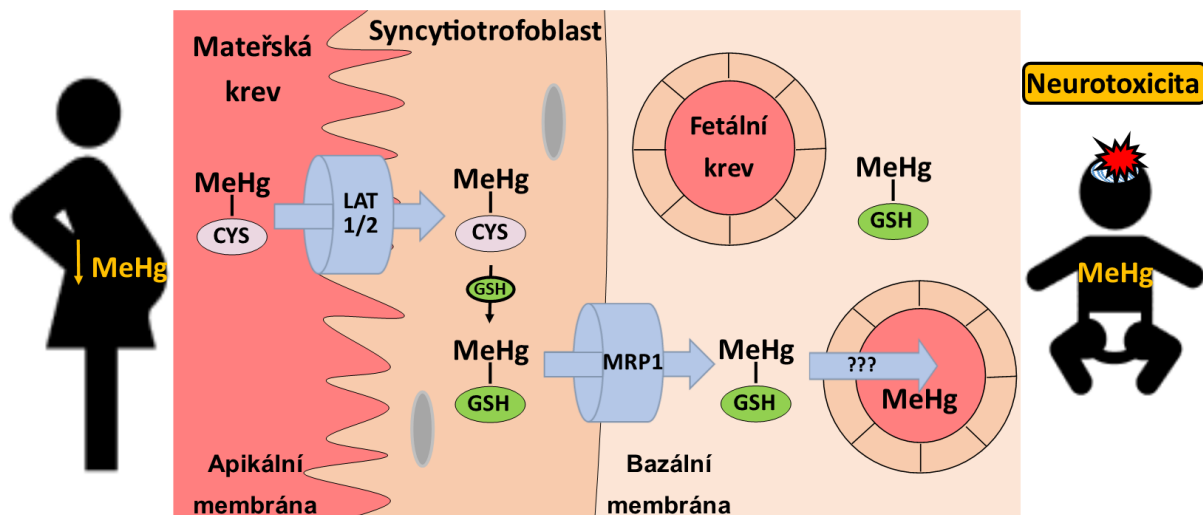
Enviromentální toxiny zahrnují řadu chemických sloučenin, které se mohou dostávat do ovzduší přirozenou cestou například po výbuchu sopky nebo lesních požárech, nicméně drtivá většina se dostává do vzduchu lidským přičiněním – výrobní průmysl, pesticidy, nadměrná doprava, cigaretový kouř a mnoho dalších. Negativní dopady na prenatální vývoj plodu a dítěte v raném věku v důsledku vysoké expozice těmto toxinům je dlouho diskutovaným a stále častěji zohledňovaným tématem [1, 107]. U řady polutantů byly popsány interakce na ABC i SLC transportérech, které by dle povahy interakce mohly a) ovlivňovat míru přestupu enviromentálních toxinů přes placentu [108-111] b) negativně ovlivnit jejich funkci a expresi, a tím fyziologický vývoj placenty a plodu [112-114].

3.5.1 Metylrtuť

Metylrtuť patří mezi biokumulativní enviromentální toxiny tvořené z anorganické rtuti aktivitou mikroorganismů žijících především ve vodním prostředí zahrnujícím jezera, řeky či oceán. Přirozeným zdrojem rtuti v ovzduší jsou výbuchy sopek či lesní požáry a umělé zdroje

zahrnují hlavně spalování uhlí a odpadků obsahujících rtuť. Zvýšená expozice metylrtuti je často detekována v organismu těhotných žen, což je spojováno s konzumací mořských ryb, ve kterých se metylrtuť kumuluje, ve snaze zlepšit životní styl a jídelníček během gravidity [21]. Methylrtuť dokáže snadno vstupovat do placenty, v níž je zadržována [115]. Významný podíl metylrtuti nicméně zjevně přechází dál do fetální tkáně, kde vykazuje škodlivé neurotoxické působení [24, 26, 115]. Z tohoto důvodu zařadila FDA konzumaci mořských ryb s rizikovým výskytem metylrtuti do doporučení o správném stravování během těhotenství [22]. Přesto zůstává negativní působení metylrtuti na vývoj plodu aktuálním problémem a objasnění jejího mechanismu toxicity a přestupu přes placentu může výrazně přispět ke snížení negativních vlivů na plod.

Dosavadní studie potvrdily příspěvek SLC transportérů, konkrétně LAT1 a 2 (SLC7A5 a SLC7A8) ve vstupu metylrtuti přes apikální membránu syncytiotrofoblastu, metylrtuť je zde přenášena v komplexu s cysteinem připomínajícím methionin [23, 25]. Následně je komplex disociován a metylrtuť je konjugována s glutathionem a pravděpodobně prostřednictvím MRP1 v bazální membráně posunuta dále do placentárního interstitia [26]. Přímý důkaz o zapojení MRP1 do transportu metylrtuti ze syncytiotrofoblastu a vliv tohoto procesu na placentární viabilitu však nebyl doposud popsán a byl předmětem odborné studie č. 5 komentované v této práci.



Obrázek 4: Expozice plodu metylrtutí (MeHg). Zpracováno dle Balthasar et al. (2017) a Straka et al. (2016) [23, 26].

4 CÍLE PRÁCE

Z předchozí kapitoly vyplývá, že ABC i SLC transportéry mohou významně ovlivnit přestup xenobiotik přes buněčné membrány a tím pozměnit jejich distribuci přes placentu. Hlavními cíli této práce bylo:

- Studium, zda jsou maravirok, etravirin a rilpivirin inhibitory a/nebo substráty ABC a SLC transportérů pomocí *in vitro* akumulčních a transportních studií na modelových Madin-darby canine kidney II (MDCKII) a A431 buňkách exprimujících lidské ABC a SLC transportéry.
- Studium transportu maraviroku přes potkaní a lidskou placentu a zhodnocení mezidruhového rozdílu.
- Studium souhry transportérů při přestupu maraviroku přes lidskou placentu pomocí *in vitro* akumulčních studií ve vilózních fragmentech lidské placenty a BeWo buňkách.
- Podrobný screening mRNA exprese ABC a OATP transportérů v placentární tkáni, izolovaných trofoblastech, fetálních cévách a BeWo buňkách.
- Studium role MRP1 v ochraně placentární tkáně před oxidativním stresem při expozici methyrtutí.

5 SEZNAM ODBORNÝCH PUBLIKACÍ V ZAHRANIČNÍCH ČASOPISECH A PODÍL KANDIDÁTKY NA JEDNOTLIVÝCH PRACÍCH

Tato dizertační práce je předkládána jako komentovaný soubor pěti odborných publikací, z nichž čtyři jsou publikovány v zahraničních časopisech s impakt-faktorem a jeden manuskript je v době odevzdání práce ve stádiu revizí v časopise Archives of Toxicology. Kandidátka je první autorkou dvou předkládaných prací a spoluautorkou ostatních třech prací. Podíl kandidátky na jednotlivých publikacích je uveden níže:

5.1 Etravirine inhibits ABCG2 drug transporter and affects transplacental passage of tenofovir disoproxil fumarate

Řezníček Josef, Čečková Martina, Ťupová Lenka, Štaud František

Placenta 2016, 47, p 124-129, IF_{2015/2016} = 2,972, Q1

DOI: 10.1016/j.placenta.2016.09.019

- kultivace buněčných linií MDCKII-MDR1 a MDCKII-BCRP
- asistence při perfúzích potkaní placenty
- revize manuskriptu

5.2 MDR1 and BCRP Transporter-Mediated Drug-Drug Interaction between Rilpivirine and Abacavir and Effect on Intestinal Absorption

Řezníček Josef, Čečková Martina, Ptáčková Zuzana, Martinec Ondřej, Ťupová Lenka, Červený Lukáš, Štaud František

Antimicrobial Agents and Chemotherapy 2017, 61(9), IF_{2016/2017} = 4,302, Q1

DOI: 10.1128/AAC.00837-17

- kultivace buněčných linií MDCKII-MDR1 a MDCKII-BCRP
- pomoc při inhibičních a transportních studiích na MDCKII buňkách

5.3 Interactions between Maraviroc and the ABCB1, ABCG2, and ABCC2 Transporters: An Important Role in Transplacental Pharmacokinetics

Ťupová Lenka, Čečková Martina, Ambrus Csilla, Šorf Aleš, Ptáčková Zuzana, Gaborik Zsuzanna, Štaud František

Drug Metabolism and Disposition 2019, 47(9), p 954-960, IF_{2018/2019} = 3,354, Q2

DOI: 10.1124/dmd.119.087684

- Provedení a vyhodnocení naprosté většiny v práci zahrnutých experimentů:
 - akumulční a transportní *in vitro* studie na MDCKII buňkách exprimujících lidské transportéry MDR1, BCRP a MRP2
 - *In situ* otevřená a uzavřená perfúze maraviroku přes potkaní placentu
- Vyhodnocení dat a sepsání manuskriptu

5.4 Interplay of drug transporters P-glycoprotein (MDR1), MRP1, OATP1A2 and OATP1B3 in passage of maraviroc across human placenta

Ťupová Lenka, Hirschmugl Birgit, Suchá Simona, Pilařová Veronika, Székely Virág, Bakos Éva, Nováková Lucie, Wadsack Christian, Özvegy-Laczka Csilla, Čečková Martina

Biomedicine & Pharmacotherapy 2020, IF_{2019/2020} = 4,545, Q1

DOI: 10.1016/j.biopha.2020.110506

- Provedení a vyhodnocení naprosté většiny v práci zahrnutých experimentů:
 - Obousměrná uzavřená perfúze maraviroku přes kotyledon lidské placenty (ve spolupráci a pod odborným dozorem Birgit Hirschmugl, Ph.D. z Lékařské Univerzity v Grazu)
 - *In vitro* akumulční a transportní studie na MDCKII, A431 a BeWo buňkách
 - Akumulační studie na vilózních fragmentech lidské placenty
 - Izolace placentárních trofoblastů
 - Real-time PCR pro stanovení exprese transportérů v placentární tkáni, BeWo buňkách, izolovaných trofoblastech a fetálních kapilárách
- Vyhodnocení dat a sepsání manuskriptu

5.5 In vitro function and in situ localization of Multidrug Resistance-associated Protein (MRP)1 (ABCC1) suggest a protective role against oxidative stress in the human placenta

Granitzer Sebastian, Ellinger Isabella, Khan Rumsha, Gelles Katharina, Widhalm Raimund, Hengstschläger Markus, Zeisler Harald, Desoye Gernot, Ťupová Lenka, Čečková Martina, Salzer Hans, Gundacker Claudia

Manuskript ve stavu revizí časopisu Archives of Toxicology (červenec 2020),
IF_{2019/2020} = 5,059

- Transportní a akumulační studie *in vitro* na MDCKII-MRP1 buňkách
- Pomoc při analýze mRNA exprese MRP1 transportéru v MDCKII buňkách
- Vyhodnocení relevantních dat, pomoc při sepsání a revizích manuskriptu

6 KOMENTÁŘE K JEDNOTLIVÝM PUBLIKACÍM

6.1 Etravirine inhibits ABCG2 drug transporter and affects transplacental passage of tenofovir disoproxil fumarate

Řezníček Josef, Čečková Martina, Ťupová Lenka, Štaud František

Placenta 2016, 47, p 124-129, IF_{2015/2016} = 2,972, Q1

DOI: 10.1016/j.placenta.2016.09.019

Kombinovaná ART je podávána těhotným ženám pozitivním na HIV za účelem snížení rizika přenosu viru HIV z matky na plod. Nukleosidové/nukleotidové inhibitory reverzní transkriptázy abakavir a TDF zastupují léčiva první volby pro léčbu HIV infekce v těhotenství. Obě tato léčiva jsou potvrzenými substráty MDR1 (ABCB1) a BCRP (ABCG2) transportérů, které jsou přítomny v apikální membráně syncytiotrofoblastu. Etravirin ze skupiny ne-nukleosidové inhibitory reverzní transkriptázy nepatří v těhotenství mezi léčiva první volby, ale jeho dosavadní podání nevykazovalo závažné škodlivé účinky na plod. Předchozí studie naznačují, že etravirin je silným inhibitorem BCRP transportéru, a tudíž by mohl ovlivnit farmakokinetiku abakaviru a TDF při společném podání. Proto cílem této studie bylo: a) popsání inhibičního potenciálu etravirinu vůči MDR1 a BCRP transportéru prostřednictvím akumulčních studií na MDCKII-MDR1 a -BCRP buňkách, b) popsání vlivu etravirinu na transport abakaviru a TDF přes monovrstvu MDCKII-BCRP buněk a potkaní placenty.

Etravirin (1 a 10 μ M) signifikantně zvýšil akumulaci Hoechst 33342 v MDCKII-BCRP buňkách, ale nikoliv v MDCKII-MDR1 buňkách. Tato data potvrzují, že etravirin inhibuje BCRP transportér. Etravirin dále inhiboval přestup radioaktivně značeného abakaviru (300 nM) a TDF (33 nM) při jejich transportu přes monovrstvu MDCKII-BCRP buněk. Výrazně nižší koncentrace etravirinu (0.1 μ M) byla potřebná ke kompletní inhibici transportu abakaviru než TDF (inhibice při 1 μ M koncentraci etravirinu), což naznačuje menší vliv BCRP transportéru na přestup abakaviru oproti TDF. Tato hypotéza byla dále potvrzena, při uzavřené oboustranné perfúzi abakaviru a TDF přes potkaní placentu. Etravirin (1 a 10 μ M) částečně, avšak signifikantně, zabránil poklesu koncentrace TDF ve fetálním kompartmentu. Obě použité koncentrace etravirinu dosáhly stejného efektu jako 2 μ M modelový inhibitor BCRP fumitremorgin C. Při perfúzi abakaviru nebyl pozorován signifikantní vliv etravirinu ani fumitremorginu C. Tato data naznačují, že BCRP nehraje v přestupu abakaviru přes placentu důležitou roli.

6.2 MDR1 and BCRP Transporter-Mediated Drug-Drug Interaction between Rilpivirine and Abacavir and Effect on Intestinal Absorption

Řezníček Josef, Čečková Martina, Ptáčková Zuzana, Martinec Ondřej, Ťupová Lenka, Červený Lukáš, Štaud František

Antimicrobial Agents and Chemotherapy 2017, 61(9), IF_{2016/2017} = 4,302, Q1

DOI: 10.1128/AAC.00837-17

Rilpivirin je ne-nukleosidový inhibitor druhé generace významně přispívající ke kontrole HIV infekce v rámci kombinované ART. Antiretrovirální léčiva jsou známá častými interakcemi s lékovými transportéry a kvůli jejich podávání v kombinovanému režimu je důkladná znalost těchto interakcí velmi důležitá. Cílem této práce bylo vyhodnotit *in vitro* interakce rilpivirinu s vybranými ABC a SLC transportéry a následně ověřit důležitost těchto interakcí na *in vivo* modelu. Akumulační studie odhalily rilpivirin jako účinný inhibitor MDR1 a BCRP transportéru a vyloučily jeho inhibiční potenciál vůči MRP2, OCT1, OCT2 a MATE1 transportérům. Následné transportní studie prováděné metodou koncentračních ekviliibrí na MDCKII-MDR1 a MDCKII-BCRP buňkách prokázaly účinnou inhibici přestupu abakaviru při inhibici rilpivirinem. Předchozí studie zaměřená na interakce etravirinu s TDF a abakavirem na placentě ukázala, že BCRP ani MDR1 pravděpodobně nejsou dominantními transportéry pro abakavir v placentě. Oproti placentě, je exprese MDR1 a BCRP transportéru v tenkém střevě mnohem vyšší a rilpivirin se prokázal jako účinný inhibitor obou diskutovaných transportérů. Proto byla provedena studie obousměrného transportu abakaviru přes monovrstvu Caco-2 buněk, které simulují střevní bariéru, potvrzující zapojení apikálně orientovaných efluxních transportérů odpovídající aktivitě MDR1 a BCRP. Rilpivirin tento transport kompletně zainhiboval. Zvýšení orální biodostupnosti abakaviru při současném podávání rilpivirinu samcům potkanů kmene Wistar potvrdilo relevanci interakce na intestinálním MDR1 a BCRP transportéru *in vivo*.

6.3 Interactions between Maraviroc and the ABCB1, ABCG2, and ABCC2 Transporters: An Important Role in Transplacental Pharmacokinetics

Župová Lenka, Čečková Martina, Ambrus Csilla, Sorf Ales, Ptackova Zuzana, Gaborik Zsuzanna, Štaud František

Drug Metabolism and Disposition 2019, 47(9), p 954-960, IF_{2018/2019} = 3,354, Q2

DOI: 10.1124/dmd.119.087684

Maravirok inhibuje CCR5, čímž brání vstupu R5-tropního viru HIV do hostitelské buňky. Dále byly popsány příznivé účinky maraviroku u řady zánětlivých, autoimunitních či nádorových nemocí spojených s pozměněnou funkcí/expresí CCR5. Maravirok omezeně přestupuje lidskou placentu, což je spojováno s předpokládanou afinitou k lidskému MDR1 (ABCB1) transportéru, nicméně tato teorie nikdy nebyla potvrzena funkčně přímo na placentární tkáni. V naší studii jsme se tedy zaměřili na interakce maraviroku se třemi nejvýznamnějšími ochrannými transportéry exprimovanými v apikální membráně syncytiotrofoblastu: MDR1, BCRP (ABCG2) a MRP2 (ABCC2).

Inhibiční studie na MDCKII buňkách exprimujících výše zmíněné transportéry vyloučily maravirok jako inhibitor MDR1, BCRP a MRP2. Transportní studie založené na principu obousměrného transportu odhalily silnou afinitu maraviroku k endogennímu Mdr1 transportéru, a proto musely být ostatní transportní studie na MDCKII buňkách provedeny na pozadí Mdr1/MDR1 inhibitoru zosuquidar (2 μ M). BCRP ani MRP2 za těchto podmínek s maravirokiem neinteragovaly. Efekt lidského MDR1 byl zcela skryt za aktivitou endogenního Mdr1, a proto jsme doplnili *in vitro* studie o akumulační studie na A431 buňkách a porovnali jsme je s akumulací na A431-MDR1 exprimujících buňkách, čímž jsme poprvé přímo potvrdili maravirok jako substrát lidského MDR1 transportéru.

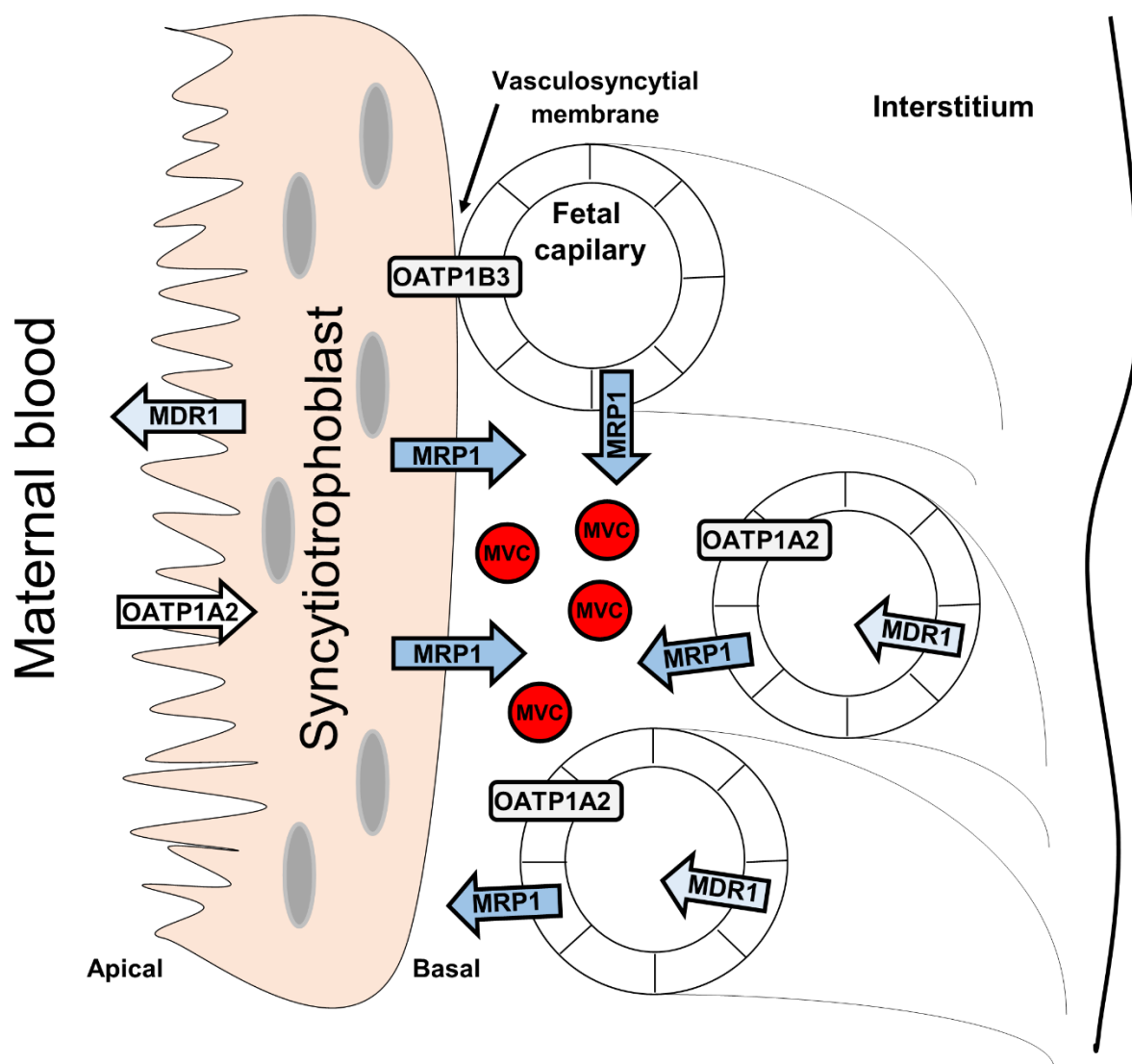
Aktivita Mdr1 v transportu maraviroku byla následně potvrzena při otevřené perfúzi potkaní placenty, kdy jsme pozorovali významnější přestup maraviroku ve fetu-maternálním směru než ve směru opačném. Následná perfúze v uzavřeném uspořádání odhalila pokles maraviroku ve fetálním kompartmentu reagující na přítomnost Mdr1 inhibitorů zosuquidar (2 μ M), elacridar (2 μ M), ritonaviru (10 μ M) i vysoké saturační koncentrace maraviroku (100 μ M). Tyto výsledky poprvé přímo prokázaly funkční zapojení Mdr1 transportéru v transplacentární farmakokinetice maraviroku.

6.4 Interplay of drug transporters P-glycoprotein (MDR1), MRP1, OATP1A2 and OATP1B3 in passage of maraviroc across human placenta

Župová Lenka, Hirschmugl Birgit, Suchá Simona, Pilařová Veronika, Székely Virág, Bakos Éva, Nováková Lucie, Wadsack Christian, Özvegy-Laczka Csilla, Čečková Martina

Biomedicine & Pharmacotherapy 2020, IF_{2019/2020} = 4,545, Q1

DOI: 10.1016/j.biopha.2020.110506



Obrázek č. 5: Grafický abstrakt k publikaci č. 4.

Výrazně silnější afinita maraviroku ke zvířecí variantě Mdr1 transportéru, než k lidskému MDR1 v MDCKII buňkách, nás vedla k otázce, zda jsou v případě maraviroku

výsledky získané pomocí potkaní perfúze relevantní pro placentu lidskou. Lidskou placentu jsme perfundovali roztokem maraviroku v obousměrném uzavřeném uspořádání, jehož výhodou je omezení vlivu pasivní difúze spojené se snadnějším projevem zapojených transportérů. Získané výsledky ukázaly pouze slabý vliv MDR1 na transport maraviroku přes lidskou placentu, ale zároveň byla odhalena vysoká tendence pro vychytávání maraviroku z maternálního kompartmentu a jeho následné uvolňování zpět do perfúzátu po promývání placenty roztokem inhibitoru elacridaru (2 μ M) nebo ritonaviru (10 μ M).

Obousměrný transport maraviroku přes monovrstvu BeWo buněk, jejichž výhodou je, že oproti trofoblastům neexprimují MDR1 transportér, potvrdil posílený transport maraviroku v apikálně-bazolaterálním směru reagující na přítomnost elacridaru a ritonaviru stejně jako v případě lidské placenty. Doplňkové akumulární studie v BeWo buňkách poté naznačily zapojení nespecifického influxního transportéru a efluxního transportéru ze skupiny MRPs. Vzhledem k dříve potvrzené interakci maraviroku s OATP1B1 transportérem v játrech a častému překryvu substrátů v rámci rodiny OATPs jsme provedli důkladný screening genové exprese OATPs transportérů relevantních pro placentu v BeWo buňkách, námi perfundovaných placentách a samostatně izolovaných trofoblastech a fetálních endoteliálních buňkách. Následné *in vitro* studie na MDCKII a A431 liniích potvrdily interakci maraviroku k lidskými MRP1, OATP1A2 a OATP1B3 transportéry, což jsme následně ověřili přímo v placentární tkáni za použití akumulární studie ve vilózních fragmentech placenty. Lokalizace všech tří transportérů nově definovaných pro interakce s maravirokem je v souladu s daty získanými při perfúzi lidské placenty, kdy bylo pozorováno vychytávání maraviroku z maternální strany a jeho zadržování v placentě.

6.5 In vitro function and in situ localization of Multidrug Resistance-associated Protein (MRP)1 (ABCC1) suggest a protective role against oxidative stress in the human placenta

Granitzer Sebastian, Ellinger Isabella, Khan Rumsha, Gelles Katharina, Widhalm Raimund, Hengstschläger Markus, Zeisler Harald, Desoye Gernot, Ĺupová Lenka, Āččková Martina, Salzer Hans, Gundacker Claudia

Manuskript v revizním řízení časopisu Archives of Toxicology (červenec 2020), IF_{2019/2020} = 5,059

Metylrť patří mezi nejdiskutovanější enviromentální polutanty ohrožující lidské zdraví. Již delší dobu je známo, že metylrť poměrně snadno proniká a kumuluje se v placentě a významná část prostupuje až do fetální krve, kde působí neurotoxicky na plod. Metylrť vstupuje do placenty v komplexu s cysteinem připomínající methionin pomocí aminokyselinových receptorů a předchozí studie naznačily, že z trofoblastu je exportována v komplexu s glutathionem prostřednictvím MRP1 transportéru na bazální membráně syncytiotrofoblastu. Nicméně přímé zapojení MRP1 do transportu metyrlrtuti z trofoblastu a vliv tohoto procesu na viabilitu placentární tkáně nebyl nikdy studován. Za tímto účelem byl proveden obousměrný transport metyrlrtuti přes monovrstvu MDCKII-MRP1 buněk, jenž potvrdil MRP1-zprostředkovaný transport metyrlrtuti. Následný siRNA-navozený útlum genové exprese MRP1 v placentární buněčné linii HTR-8/SVneo způsobil vyšší akumulaci meylrtuti v buňkách následovanou zvýšením cytotoxicity, rychlejším navozením apoptózy a nárůstem oxidativního stresu detekovaného prostřednictvím glutathionového statusu. V souhrnu tato data ukazují, že efluxní aktivita MRP1 hraje důležitou roli při ochraně placentárních buněk před oxidativním stresem a přispívá k udržení glutathionového statusu v rovnováze. Jelikož lokalizace MRP1 v placentě je stále předmětem mnoha vědeckých diskuzí, byla též provedena lokalizace MRP1 pomocí imunofluorescenční mikroskopie, jasně prokazující intracelulární a bazální expresi MRP1 v syncytiotrofoblastu a dále významnou expresi MRP1 ve fetálních endoteliálních buňkách.

7 SHRNUTÍ A ZÁVĚR

Již téměř 40 let uběhlo od objevení viru HIV a během této doby byl detailně popsán jeho životní cyklus, způsoby přenosu z člověka na člověka i účinná preventivní opatření zabraňující šíření této nákazy. Přesto bylo v roce 2019 celosvětově identifikováno 1,7 milionů nových případů, z nichž 150 000 připadá na děti, u nichž je nejčastější příčinou nemoci přenos z matky. Ačkoliv drtivá většina nakažených dětí pochází z rozvojových zemí, především z Afriky, stále se jedná o celosvětový problém, který řeší i vyspělé země [10]. Pro zajímavost, v roce 2019 se v České republice narodilo 11 dětí HIV pozitivním ženám a žádné z nich nebylo nakaženo [116].

Antiretrovirální léčiva sama o sobě přestupují placentu v různé míře v závislosti na jejich fyzikálně-chemických vlastnostech a afinitě k placentárním ABC a SLC transportérům, které jsou častým místem vzniku lékových interakcí při kombinovaném podávání léčiv, jako je tomu v případě terapie HIV. Zvýšená expozice plodu antiretrovirálním léčivům může na jednu stranu zefektivnit prenatální prevenci, ale též může vést k rozvoji nežádoucích účinků na plod. Důkladná znalost zapojení ABC a SLC transportérů do přestupu anti-HIV léčiv přes placentu může proto významně přispět k zefektivnění a bezpečnosti léčby/prevence HIV pozitivní těhotné ženy a jejího dítěte [8, 15, 19, 20].

Interakce antiretrovirálních léčiv s ABC a SLC transportéry relevantními pro placentu jsme studovali především pomocí: a) *in vitro* buněčných modelů, b) *in situ* duální perfúze potkaní placenty, c) metodik využívajících lidskou placentu (*ex vivo* duální perfúze placentárního kotyledonu a *in vitro* akumulární studie ve vilózních fragmentech placenty).

První studie byla zaměřená na ovlivnění přestupu duálních MDR1 a BCRP substrátů abakaviru a TDF, patřících mezi léčiva první volby v těhotenství, současným podáním dalšího antiretrovirálního léčiva etravirinu, který je efektivním inhibitorem BCRP transportéru. Přestože etravirin signifikantně ovlivnil přestup obou substrátů přes monovrstvu MDCKII-BCRP buněk, během duální perfúze potkaní placenty byla pozorována pouze interakce TDF a etravirinu na BCRP transportéru. Přestup abakaviru nebyl vlivem etravirinu nijak pozměněn, což naznačuje spíše minoritní vliv BCRP na placentární přestup abakaviru.

In vitro ovlivnění přestupu abakaviru přes monovrstvy MDCKII-BCRP, MDCKII-MDR1 a Caco-2 buněk bylo pozorováno i v případě současného podání rilpivirinu, který oproti etravirinu inhibuje oba zmíněné transportéry. Zvýšená orální biodostupnost abakaviru v přítomnosti rilpivirinu u potkanů potvrdila relevanci interakce v *in vivo* prostředí. Přestože

tato kombinace léčiv nebyla v naší studii aplikována přímo na placentu, díky přídavné inhibici MDR1 je interakce na placentě velmi pravděpodobná.

Nejvíce studovaným antiretrovirálním léčivem v rámci této práce byl CCR5 antagonist maravirok, který byl předmětem zájmu obou prvoautorských prací kandidátky. Maravirok je díky své nízké toxicitě podáván nejen dospělým HIV pozitivním pacientům [11], ale též dětem [88], a přestože nepatří v těhotenství mezi léčiva první volby, není jeho užití kontraindikováno [8]. Navíc jeho inhibiční zásah do chemokinového systému organismu přináší pozitivní výsledky i v léčbě dalších autoimunitních, zánětlivých či nádorových onemocnění [101].

Přestup maraviroku přes placentu je výrazně limitován, což bylo přisuzováno jeho pravděpodobné afinitě k MDR1 transportéru vyvozené z *in vitro* studií na Caco-2 buňkách [97, 117]. Přímý důkaz o této interakci a její relevance pro placentární tkáň, však nebyla nikdy funkčně popsána. Naše výsledky získané pomocí *in vitro* transportních studií na MDCKII buňkách prokázaly neobvykle vysokou afinitu maraviroku k endogenní psí variantě Mdr1 v MDCKII buňkách, zcela maskující zapojení lidského MDR1 v MDCKII-MDR1 linii. Interakce s lidským MDR1 proto musela být potvrzena pomocí doplňkové *in vitro* akumulární studii v A431 a A431-MDR1 buňkách. Perfúze potkaní placenty maravirokem v otevřeném uspořádání potvrdila omezený přestup maraviroku přes placentu v materno-fetálním směru. Pokles koncentrace maraviroku ve fetálním kompartmentu během uzavřené perfúze byl následně limitován třemi různými MDR1/Mdr1 inhibitory i vysokou saturující koncentrací maraviroku. Ochota maraviroku interagovat raději se psím Mdr1, než lidským analogem MDR1 v MDCKII buňkách nás však přivedla k otázce, zda v případě maraviroku lze výsledky získané v potkaní placentě aplikovat též na lidský organismus. Druhá studie byla tedy zaměřená na studium transplacentárního přestupu maraviroku s výhradním testováním přímo na lidských placentárních modelech nebo buněčných liniích exprimujících lidské transportéry relevantní pro placentu. Během *ex vivo* perfúze maraviroku přes lidskou placentu v obousměrném uzavřeném uspořádání byl pozorován pokles maraviroku v obou kompartmentech naznačující zadržování maraviroku uvnitř placentární tkáně. Přidání MDR1 inhibitorů k perfúznímu roztoku limitovalo tento pokles ve fetálním kompartmentu, nikoliv však v maternálním. Následné *in vitro* studie potvrdily zapojení též MRP1, OATP1B3 a OATP1A2 do transportu maraviroku. Velmi zajímavá se zdá být především interakce s lidským MRP1, který dokázal zvrátit transportní aktivitu endogenního Mdr1 v MDCKII buňkách, z čehož vyplývá, že afinita maraviroku k lidskému MRP1 transportéru je vyšší než k lidskému MDR1. Bazální/bazolaterální lokalizace MRP1 transportéru v syncytiotrofoblastu [66, 67] a fetálních

kapilárách [67, 68] směřující přenos substrátů MRP1 pravděpodobně směrem do placentárního intersticia, by spolu s přispěním influxní aktivity OATP1A2 a OATP1B3 odpovídalo situaci pozorované během perfúze maraviroku přes lidskou placentu. Na příkladu maraviroku je proto zřetelně vidět, že předpokládaná ochranná funkce MDR1 limitující přestup svých substrátů přes placentu, může být u některých látek zvrácena souhrou ostatních placentárních transportérů.

Významná role MRP1 byla prokázána i v poslední odborné studii, která je součástí tohoto komentovaného souboru. Negativní neurotoxické působení metylrtuti, která proniká skrz placentu do plodu je již dlouho známo [24]. Informace o působení metylrtuti přímo v placentární tkáni jsou však velmi omezené. Metylrtuť vstupuje do placenty v komplexu s cysteinem prostřednictvím LAT1 a 2 transportérů přes apikální membránu syncytiotrofoblastu [23, 25, 26]. Předchozí studie pak naznačily, že ze syncytiotrofoblastu je metylrtuť v konjugátu s glutathionem odčerpávána aktivitou MRP1 v bazální membráně [26]. V odborné publikaci č. 5 jsme tuto domněnku potvrdili prostřednictvím funkčních *in vitro* studií na parentních MDCKII a MDCKII-MRP1 buněčných liniích. Útlum exprese MRP1 v placentární buněčné linii HTR-8/SVneo navozený experimentálně pomocí siRNA navíc způsobil zvýšenou akumulaci metylrtuti v buňkách spojenou s rychlejším nástupem apoptózy v důsledku zvýšeného oxidačního stresu. Tyto výsledky potvrzují tedy nejen zapojení MRP1 do transportu metylrtuti v placentě, ale též jeho ochranou funkci před buněčnou toxicitou.

Oba výzkumné směry diskutované v této dizertační práci patří mezi aktuální témata, jejichž problematikou se zabývají světové organizace typu WHO či vládní agentury jako FDA a EMA [10, 22, 49, 50, 118]. Data získaná k vypracování této práce proto významně rozšiřují dosud nekompletní znalosti ohledně přestupu antiretrovirálních léčiv a metylrtuti přes placentu a mají tak potenciál využití v oblasti optimalizace farmakoterapie a zajištění bezpečnosti těhotné ženy a vývoje jejího plodu.

8 REFERENCE

1. Gonzalez-Casanova, I., et al., *Prenatal exposure to environmental pollutants and child development trajectories through 7 years*. Int J Hyg Environ Health, 2018. **221**(4): p. 616-622.
2. Mehta, N. and L. Larson, *Pharmacotherapy in pregnancy and lactation*. Clin Chest Med, 2011. **32**(1): p. 43-52.
3. Bookstaver, P.B., et al., *A Review of Antibiotic Use in Pregnancy*. Pharmacotherapy, 2015. **35**(11): p. 1052-62.
4. Ostensen, M.E. and J.F. Skomsvoll, *Anti-inflammatory pharmacotherapy during pregnancy*. Expert Opin Pharmacother, 2004. **5**(3): p. 571-80.
5. Rommer, P.S. and U.K. Zettl, *Managing the side effects of multiple sclerosis therapy: pharmacotherapy options for patients*. Expert Opin Pharmacother, 2018. **19**(5): p. 483-498.
6. Dude, A., et al., *Management of Diabetes in the Intrapartum and Postpartum Patient*. Am J Perinatol, 2018. **35**(11): p. 1119-1126.
7. Strasburger, J.F. and R.T. Wakai, *Fetal cardiac arrhythmia detection and in utero therapy*. Nat Rev Cardiol, 2010. **7**(5): p. 277-90.
8. AIDSinfo, *Panel on Treatment of Pregnant Women with HIV Infection and Prevention of Perinatal Transmission. Recommendations for Use of Antiretroviral Drugs in Transmission in the United States. Available at <http://aidsinfo.nih.gov/contentfiles/lvguidelines/PerinatalGL.pdf>. Accessed (16.7.2020)*.
9. Kourtis, A.P., et al., *Mother-to-child transmission of HIV-1: timing and implications for prevention*. Lancet Infect Dis, 2006. **6**(11): p. 726-32.
10. WHO. *HIV/AIDS. Data and statistics*. 2020 [cited 16.7. 2020]; Available from: <https://www.who.int/hiv/data/en/>.
11. AIDSinfo, *Panel on Antiretroviral Guidelines for Adults and Adolescents. Guidelines for the Use of Antiretroviral Agents in Adults and Adolescents with HIV. Department of Health and Human Services. Available at <http://www.aidsinfo.nih.gov/ContentFiles/AdultandAdolescentGL.pdf>. Accessed [16.7.2020]*.
12. Ceckova, M., et al., *Role of ABC and Solute Carrier Transporters in the Placental Transport of Lamivudine*. Antimicrob Agents Chemother, 2016. **60**(9): p. 5563-72.

13. Cervený, L., et al., *Equilibrative Nucleoside Transporter 1 (ENT1, SLC29A1) Facilitates Transfer of the Antiretroviral Drug Abacavir across the Placenta*. Drug Metab Dispos, 2018. **46**(11): p. 1817-1826.
14. Cervený, L., et al., *Interactions of protease inhibitors atazanavir and ritonavir with ABCB1, ABCG2, and ABCC2 transporters: Effect on transplacental disposition in rats*. Reprod Toxicol, 2018. **79**: p. 57-65.
15. Kis, O., et al., *The complexities of antiretroviral drug-drug interactions: role of ABC and SLC transporters*. Trends Pharmacol Sci, 2010. **31**(1): p. 22-35.
16. Neumanova, Z., et al., *Interactions of tenofovir and tenofovir disoproxil fumarate with drug efflux transporters ABCB1, ABCG2, and ABCC2; role in transport across the placenta*. AIDS, 2014. **28**(1): p. 9-17.
17. Neumanova, Z., et al., *Role of ABCB1, ABCG2, ABCC2 and ABCC5 transporters in placental passage of zidovudine*. Biopharm Drug Dispos, 2016. **37**(1): p. 28-38.
18. Neumanova, Z., et al., *Effect of drug efflux transporters on placental transport of antiretroviral agent abacavir*. Reprod Toxicol, 2015. **57**: p. 176-82.
19. Gulati, A. and P.M. Gerk, *Role of placental ATP-binding cassette (ABC) transporters in antiretroviral therapy during pregnancy*. J Pharm Sci, 2009. **98**(7): p. 2317-35.
20. Staud, F., L. Cervený, and M. Ceckova, *Pharmacotherapy in pregnancy; effect of ABC and SLC transporters on drug transport across the placenta and fetal drug exposure*. J Drug Target, 2012. **20**(9): p. 736-63.
21. Sheehan, M.C., et al., *Global methylmercury exposure from seafood consumption and risk of developmental neurotoxicity: a systematic review*. Bull World Health Organ, 2014. **92**(4): p. 254-269F.
22. FDA. *Food Safety for Moms-to-Be*. 2017 [cited 16.7.2020]; Available from: <https://www.fda.gov/media/73720/download>.
23. Balthasar, C., et al., *Methylmercury Uptake into BeWo Cells Depends on LAT2-4F2hc, a System L Amino Acid Transporter*. Int J Mol Sci, 2017. **18**(8).
24. Maccani, J.Z., et al., *Placental DNA Methylation Related to Both Infant Toenail Mercury and Adverse Neurobehavioral Outcomes*. Environ Health Perspect, 2015. **123**(7): p. 723-9.
25. Simmons-Willis, T.A., et al., *Transport of a neurotoxicant by molecular mimicry: the methylmercury-L-cysteine complex is a substrate for human L-type large neutral amino acid transporter (LAT) 1 and LAT2*. Biochem J, 2002. **367**(Pt 1): p. 239-46.

26. Straka, E., et al., *Mercury toxicokinetics of the healthy human term placenta involve amino acid transporters and ABC transporters*. Toxicology, 2016. **340**: p. 34-42.
27. Cocucci, E., et al., *Role of Passive Diffusion, Transporters, and Membrane Trafficking-Mediated Processes in Cellular Drug Transport*. Clin Pharmacol Ther, 2017. **101**(1): p. 121-129.
28. Liang, Y., S. Li, and L. Chen, *The physiological role of drug transporters*. Protein Cell, 2015. **6**(5): p. 334-50.
29. Lin, L., et al., *SLC transporters as therapeutic targets: emerging opportunities*. Nat Rev Drug Discov, 2015. **14**(8): p. 543-60.
30. Choi, Y.H. and A.M. Yu, *ABC transporters in multidrug resistance and pharmacokinetics, and strategies for drug development*. Curr Pharm Des, 2014. **20**(5): p. 793-807.
31. Liu, X., *Overview: Role of Drug Transporters in Drug Disposition and Its Clinical Significance*. Adv Exp Med Biol, 2019. **1141**: p. 1-12.
32. Huls, M., F.G. Russel, and R. Masereeuw, *The role of ATP binding cassette transporters in tissue defense and organ regeneration*. J Pharmacol Exp Ther, 2009. **328**(1): p. 3-9.
33. Linton, K.J., *Structure and function of ABC transporters*. Physiology (Bethesda), 2007. **22**: p. 122-30.
34. Epel, D., et al., *Efflux transporters: newly appreciated roles in protection against pollutants*. Environ Sci Technol, 2008. **42**(11): p. 3914-20.
35. Liu, X., *ABC Family Transporters*. Adv Exp Med Biol, 2019. **1141**: p. 13-100.
36. Chen, Z., et al., *Mammalian drug efflux transporters of the ATP binding cassette (ABC) family in multidrug resistance: A review of the past decade*. Cancer Lett, 2016. **370**(1): p. 153-64.
37. Durmus, S., J.J. Hendriks, and A.H. Schinkel, *Apical ABC transporters and cancer chemotherapeutic drug disposition*. Adv Cancer Res, 2015. **125**: p. 1-41.
38. Colas, C., P.M. Ung, and A. Schlessinger, *SLC Transporters: Structure, Function, and Drug Discovery*. Medchemcomm, 2016. **7**(6): p. 1069-1081.
39. Liu, X., *SLC Family Transporters*. Adv Exp Med Biol, 2019. **1141**: p. 101-202.
40. Karbanova, S., et al., *Role of nucleoside transporters in transplacental pharmacokinetics of nucleoside reverse transcriptase inhibitors zidovudine and emtricitabine*. Placenta, 2017. **60**: p. 86-92.

41. Karbanova, S., et al., *Transport of ribavirin across the rat and human placental barrier: Roles of nucleoside and ATP-binding cassette drug efflux transporters*. *Biochem Pharmacol*, 2019. **163**: p. 60-70.
42. del Amo, E.M., A. Urtti, and M. Yliperttula, *Pharmacokinetic role of L-type amino acid transporters LAT1 and LAT2*. *Eur J Pharm Sci*, 2008. **35**(3): p. 161-74.
43. Liu, X., *Transporter-Mediated Drug-Drug Interactions and Their Significance*. *Adv Exp Med Biol*, 2019. **1141**: p. 241-291.
44. Giacomini, K.M., et al., *International Transporter Consortium commentary on clinically important transporter polymorphisms*. *Clin Pharmacol Ther*, 2013. **94**(1): p. 23-6.
45. Giacomini, K.M., A. Galetin, and S.M. Huang, *The International Transporter Consortium: Summarizing Advances in the Role of Transporters in Drug Development*. *Clin Pharmacol Ther*, 2018. **104**(5): p. 766-771.
46. International Transporter, C., et al., *Membrane transporters in drug development*. *Nat Rev Drug Discov*, 2010. **9**(3): p. 215-36.
47. Zamek-Gliszczyński, M.J., et al., *ITC recommendations for transporter kinetic parameter estimation and translational modeling of transport-mediated PK and DDIs in humans*. *Clin Pharmacol Ther*, 2013. **94**(1): p. 64-79.
48. Zamek-Gliszczyński, M.J., et al., *Transporters in Drug Development: 2018 ITC Recommendations for Transporters of Emerging Clinical Importance*. *Clin Pharmacol Ther*, 2018. **104**(5): p. 890-899.
49. EMA, *Guideline on the investigation of drug interactions*, Available at <https://www.ema.europa.eu/en/investigation-drug-interactions>. Accessed (2019/10/16). 2012.
50. FDA, *In Vitro Drug Interaction Studies - Cytochrome P450 Enzyme- and Transporter-Mediated Drug Interactions. Guidance for Industry*, Available at: <https://www.fda.gov/media/134582/download>. Accessed (2020/07/14).
51. Griffiths, S. and J. Campbell, *Placental structure, function and drug transfer*. *Continuing Education in Anaesthesia Critical Care & Pain*, 2015. **15**(2): p. 84-85.
52. Behura, S.K., et al., *The brain-placental axis: Therapeutic and pharmacological relevancy to pregnancy*. *Pharmacol Res*, 2019. **149**: p. 104468.
53. Wu, C. and C.L. Bayer, *Imaging placental function: current technology, clinical needs, and emerging modalities*. *Phys Med Biol*, 2018. **63**(14): p. 14TR01.

54. Burton, G.J. and S.W. Tham, *Formation of vasculo-syncytial membranes in the human placenta*. J Dev Physiol, 1992. **18**(1): p. 43-7.
55. Lager, S. and T.L. Powell, *Regulation of nutrient transport across the placenta*. J Pregnancy, 2012. **2012**: p. 179827.
56. Tetro, N., et al., *The Placental Barrier: the Gate and the Fate in Drug Distribution*. Pharm Res, 2018. **35**(4): p. 71.
57. Ceckova-Novotna, M., P. Pavek, and F. Staud, *P-glycoprotein in the placenta: expression, localization, regulation and function*. Reprod Toxicol, 2006. **22**(3): p. 400-10.
58. Han, L.W., C. Gao, and Q. Mao, *An update on expression and function of P-gp/ABCB1 and BCRP/ABCG2 in the placenta and fetus*. Expert Opin Drug Metab Toxicol, 2018. **14**(8): p. 817-829.
59. Mathias, A.A., J. Hitti, and J.D. Unadkat, *P-glycoprotein and breast cancer resistance protein expression in human placentae of various gestational ages*. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol, 2005. **289**(4): p. R963-9.
60. Hahnova-Cygalova, L., M. Ceckova, and F. Staud, *Fetoprotective activity of breast cancer resistance protein (BCRP, ABCG2): expression and function throughout pregnancy*. Drug Metab Rev, 2011. **43**(1): p. 53-68.
61. Meyer zu Schwabedissen, H.E., et al., *Variable expression of MRP2 (ABCC2) in human placenta: influence of gestational age and cellular differentiation*. Drug Metab Dispos, 2005. **33**(7): p. 896-904.
62. Pollex, E., A. Lubetsky, and G. Koren, *The role of placental breast cancer resistance protein in the efflux of glyburide across the human placenta*. Placenta, 2008. **29**(8): p. 743-7.
63. Staud, F., et al., *Expression and transport activity of breast cancer resistance protein (Bcrp/Abcg2) in dually perfused rat placenta and HRP-1 cell line*. J Pharmacol Exp Ther, 2006. **319**(1): p. 53-62.
64. Grube, M., et al., *Organic anion transporting polypeptide 2B1 and breast cancer resistance protein interact in the transepithelial transport of steroid sulfates in human placenta*. Drug Metab Dispos, 2007. **35**(1): p. 30-5.
65. Evseenko, D.A., et al., *The ABC transporter BCRP/ABCG2 is a placental survival factor, and its expression is reduced in idiopathic human fetal growth restriction*. FASEB J, 2007. **21**(13): p. 3592-605.

66. Atkinson, D.E., et al., *Role of MDR1 and MRP1 in trophoblast cells, elucidated using retroviral gene transfer*. Am J Physiol Cell Physiol, 2003. **285**(3): p. C584-91.
67. Nagashige, M., et al., *Basal membrane localization of MRP1 in human placental trophoblast*. Placenta, 2003. **24**(10): p. 951-8.
68. St-Pierre, M.V., et al., *Expression of members of the multidrug resistance protein family in human term placenta*. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol, 2000. **279**(4): p. R1495-503.
69. Briz, O., et al., *Role of organic anion-transporting polypeptides, OATP-A, OATP-C and OATP-8, in the human placenta-maternal liver tandem excretory pathway for foetal bilirubin*. Biochem J, 2003. **371**(Pt 3): p. 897-905.
70. Joshi, A.A., et al., *Placental ABC Transporters: Biological Impact and Pharmaceutical Significance*. Pharm Res, 2016. **33**(12): p. 2847-2878.
71. Rigato, I., et al., *The human multidrug-resistance-associated protein MRP1 mediates ATP-dependent transport of unconjugated bilirubin*. Biochem J, 2004. **383**(Pt 2): p. 335-41.
72. Bakos, E. and L. Homolya, *Portrait of multifaceted transporter, the multidrug resistance-associated protein 1 (MRP1/ABCC1)*. Pflugers Arch, 2007. **453**(5): p. 621-41.
73. Cole, S.P., *Multidrug resistance protein 1 (MRP1, ABCC1), a "multitasking" ATP-binding cassette (ABC) transporter*. J Biol Chem, 2014. **289**(45): p. 30880-8.
74. Grube, M., et al., *Expression, localization, and function of the carnitine transporter octn2 (slc22a5) in human placenta*. Drug Metab Dispos, 2005. **33**(1): p. 31-7.
75. Loubiere, L.S., et al., *Expression of thyroid hormone transporters in the human placenta and changes associated with intrauterine growth restriction*. Placenta, 2010. **31**(4): p. 295-304.
76. Nishimura, T., et al., *Quantification of ENT1 and ENT2 Proteins at the Placental Barrier and Contribution of These Transporters to Ribavirin Uptake*. J Pharm Sci, 2019. **108**(12): p. 3917-3922.
77. Sata, R., et al., *Functional analysis of organic cation transporter 3 expressed in human placenta*. J Pharmacol Exp Ther, 2005. **315**(2): p. 888-95.
78. Tomi, M., et al., *Role of OAT4 in Uptake of Estriol Precursor 16alpha-Hydroxydehydroepiandrosterone Sulfate Into Human Placental Syncytiotrophoblasts From Fetus*. Endocrinology, 2015. **156**(7): p. 2704-12.

79. Karahoda, R., et al., *Serotonin homeostasis in the materno-foetal interface at term: Role of transporters (SERT/SLC6A4 and OCT3/SLC22A3) and monoamine oxidase A (MAO-A) in uptake and degradation of serotonin by human and rat term placenta*. *Acta Physiol (Oxf)*, 2020: p. e13478.
80. Dallmann, A., et al., *Drug Transporters Expressed in the Human Placenta and Models for Studying Maternal-Fetal Drug Transfer*. *J Clin Pharmacol*, 2019. **59 Suppl 1**: p. S70-S81.
81. Ito, S., *Mother and Child: Medication Use in Pregnancy and Lactation*. *Clin Pharmacol Ther*, 2016. **100**(1): p. 8-11.
82. Kintiraki, E., et al., *Pregnancy-Induced hypertension*. *Hormones (Athens)*, 2015. **14**(2): p. 211-23.
83. Vajda, F.J., *Treatment options for pregnant women with epilepsy*. *Expert Opin Pharmacother*, 2008. **9**(11): p. 1859-68.
84. Roberts, D., et al., *Antenatal corticosteroids for accelerating fetal lung maturation for women at risk of preterm birth*. *Cochrane Database Syst Rev*, 2017. **3**: p. CD004454.
85. Siegfried, N., et al., *Antiretrovirals for reducing the risk of mother-to-child transmission of HIV infection*. *Cochrane Database Syst Rev*, 2011(7): p. CD003510.
86. Koren, G. and A. Ornoy, *The role of the placenta in drug transport and fetal drug exposure*. *Expert Rev Clin Pharmacol*, 2018. **11**(4): p. 373-385.
87. WHO. *Treatment of children living with HIV*. [cited 16.7.2020]; Available from: <https://www.who.int/hiv/topics/paediatric/hiv-paediatric-infopage/en/>.
88. AIDSinfo, *Panel on Antiretroviral Therapy and Medical Management of Children Living with HIV. Guidelines for the Use of Antiretroviral Agents in Pediatric HIV Infection*. Available at <http://aidsinfo.nih.gov/contentfiles/lvguidelines/pediatricguidelines.pdf>. Accessed (16.7.2020).
89. ClinicalTrials. *Evaluating the Safety and Pharmacokinetics of Maraviroc in HIV-1-Exposed Infants at Risk of Acquiring HIV-1 Infection*. [cited 16.7.2020]; Available from: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02778204>.
90. Lieberman-Blum, S.S., H.B. Fung, and J.C. Bandres, *Maraviroc: a CCR5-receptor antagonist for the treatment of HIV-1 infection*. *Clin Ther*, 2008. **30**(7): p. 1228-50.
91. Goodsell, D.S., *Illustrations of the HIV life cycle*. *Curr Top Microbiol Immunol*, 2015. **389**: p. 243-52.

92. Tan, Q., et al., *Structure of the CCR5 chemokine receptor-HIV entry inhibitor maraviroc complex*. Science, 2013. **341**(6152): p. 1387-90.
93. Arts, E.J. and D.J. Hazuda, *HIV-1 antiretroviral drug therapy*. Cold Spring Harb Perspect Med, 2012. **2**(4): p. a007161.
94. Abel, S., D.J. Back, and M. Vourvahis, *Maraviroc: pharmacokinetics and drug interactions*. Antivir Ther, 2009. **14**(5): p. 607-18.
95. Kimoto, E., et al., *Mechanistic Evaluation of the Complex Drug-Drug Interactions of Maraviroc: Contribution of Cytochrome P450 3A, P-Glycoprotein and Organic Anion Transporting Polypeptide 1B1*. Drug Metab Dispos, 2019. **47**(5): p. 493-503.
96. Siccardi, M., et al., *Maraviroc is a substrate for OATP1B1 in vitro and maraviroc plasma concentrations are influenced by SLCO1B1 521 T>C polymorphism*. Pharmacogenet Genomics, 2010. **20**(12): p. 759-65.
97. Walker, D.K., et al., *Species differences in the disposition of the CCR5 antagonist, UK-427,857, a new potential treatment for HIV*. Drug Metab Dispos, 2005. **33**(4): p. 587-95.
98. Oppermann, M., *Chemokine receptor CCR5: insights into structure, function, and regulation*. Cell Signal, 2004. **16**(11): p. 1201-10.
99. Francisci, D., et al., *Maraviroc Intensification Modulates Atherosclerotic Progression in HIV-Suppressed Patients at High Cardiovascular Risk. A Randomized, Crossover Pilot Study*. Open Forum Infect Dis, 2019. **6**(4): p. ofz112.
100. Hodecker, S.C., et al., *Maraviroc as possible treatment for PML-IRIS in natalizumab-treated patients with MS*. Neurol Neuroimmunol Neuroinflamm, 2017. **4**(2): p. e325.
101. Blanco, J.R. and L. Ochoa-Callejero, *Off-label use of maraviroc in clinical practice*. Expert Rev Anti Infect Ther, 2016. **14**(1): p. 5-8.
102. Karampoor, S., et al., *Maraviroc attenuates the pathogenesis of experimental autoimmune encephalitis*. Int Immunopharmacol, 2020. **80**: p. 106138.
103. Pervaiz, A., et al., *CCR5 blockage by maraviroc induces cytotoxic and apoptotic effects in colorectal cancer cells*. Med Oncol, 2015. **32**(5): p. 158.
104. Tanabe, Y., et al., *Blockade of the chemokine receptor, CCR5, reduces the growth of orthotopically injected colon cancer cells via limiting cancer-associated fibroblast accumulation*. Oncotarget, 2016. **7**(30): p. 48335-48345.
105. Pervaiz, A., et al., *CCR5 blockage by maraviroc: a potential therapeutic option for metastatic breast cancer*. Cell Oncol (Dordr), 2019. **42**(1): p. 93-106.

106. Brunton, L., B. Knollmann, and R. Hilal-Dandan, *Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics*. 13th ed. 2018.
107. Grason, H.A. and D.P. Misra, *Reducing exposure to environmental toxicants before birth: moving from risk perception to risk reduction*. Public Health Rep, 2009. **124**(5): p. 629-41.
108. Chedik, L., et al., *Interactions of pesticides with membrane drug transporters: implications for toxicokinetics and toxicity*. Expert Opin Drug Metab Toxicol, 2018. **14**(7): p. 739-752.
109. Fardel, O., E. Kolasa, and M. Le Vee, *Environmental chemicals as substrates, inhibitors or inducers of drug transporters: implication for toxicokinetics, toxicity and pharmacokinetics*. Expert Opin Drug Metab Toxicol, 2012. **8**(1): p. 29-46.
110. Myllynen, P., et al., *ABCG2/BCRP decreases the transfer of a food-born chemical carcinogen, 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine (PhIP) in perfused term human placenta*. Toxicol Appl Pharmacol, 2008. **232**(2): p. 210-7.
111. Li, J., et al., *Transplacental Transfer of Per- and Polyfluoroalkyl Substances (PFASs): Differences between Preterm and Full-Term Deliveries and Associations with Placental Transporter mRNA Expression*. Environ Sci Technol, 2020. **54**(8): p. 5062-5070.
112. Speidel, J.T., M. Xu, and S.Z. Abdel-Rahman, *Bisphenol A (BPA) and bisphenol S (BPS) alter the promoter activity of the ABCB1 gene encoding P-glycoprotein in the human placenta in a haplotype-dependent manner*. Toxicol Appl Pharmacol, 2018. **359**: p. 47-54.
113. Sieppi, E., et al., *The xenoestrogens, bisphenol A and para-nonylphenol, decrease the expression of the ABCG2 transporter protein in human term placental explant cultures*. Mol Cell Endocrinol, 2016. **429**: p. 41-9.
114. Geng, H.X. and L. Wang, *Cadmium: Toxic effects on placental and embryonic development*. Environ Toxicol Pharmacol, 2019. **67**: p. 102-107.
115. Ask, K., et al., *Inorganic mercury and methylmercury in placentas of Swedish women*. Environ Health Perspect, 2002. **110**(5): p. 523-6.
116. SZÚ, *Státní zdravotní ústav. Trendy vývoje a výskyt HIV/AIDS v ČR v roce 2019*.
117. Colbers, A., et al., *Maraviroc Pharmacokinetics in HIV-1-Infected Pregnant Women*. Clin Infect Dis, 2015. **61**(10): p. 1582-9.
118. WHO. *Children and Food Safety*. [cited 16.7.2020]; Available from: <https://www.who.int/ceh/capacity/food.pdf>.

9 PREZENTACE DAT NA ODBORNÝCH KONFERENCÍCH

9.1 Ústní prezentace

1. „Maraviroc is a substrate but not inhibitor of ABCB1“

Ťupová Lenka, Čečková Martina, Štaud František

7. Postgraduální a 5. Postdoktorandská vědecká konference Farmaceutické fakulty UK,
7. – 8. 2. 2017, Hradec Králové

2. „Transport of antiretroviral drug maraviroc across placental barrier“

Ťupová Lenka, Čečková Martina, Štaud František

BioMedical Transporters – vyzvaná přednáška, 6. – 10. 8. 2017, Lausanne, Švýcarsko

3. „Involvement of drug transporters in maraviroc transport across placental barrier“

*Ťupová Lenka, Hirschmugl Birgit, Pilařová Veronika, Čapková Maxová Eliška,
Nováková Lucie, Wadsack Christian, Štaud František, Čečková Martina*

8. Postgraduální a 6. Postdoktorandská vědecká konference Farmaceutické fakulty UK,
24. – 25. 1. 2018, Hradec Králové

4. „Mechanisms affecting maraviroc transfer across the human placenta, interplay between p-glycoprotein and other transporters“

Ťupová Lenka, Hirschmugl Birgit, Pilařová Veronika, Nováková Lucie, Wadsack Christian, Štaud František, Čečková Martina

11th European Placental Perfusion Workshop, 30. – 31. 5. 2018, Hradec Králové

5. „Mechanisms affecting maraviroc transfer across the human placenta, interplay between p-glycoprotein and other transporters“

*Ťupová Lenka, Hirschmugl Birgit, Pilařová Veronika, Szekely Virag, Laczka Csilla,
Nováková Lucie, Wadsack Christian, Štaud František, Čečková Martina*

68. Česko-slovenské farmakologické dny 5. – 7. 9. 2018, Hradec Králové

6. **„Interplay of ABCB1, ABCC1 and OATPs transporters in transfer of maraviroc across the human placenta“**

Župová Lenka, Hirschmugl Birgit, Pilařová Veronika, Szekely Virag, Laczka Csilla, Nováková Lucie, Wadsack Christian, Štaud František, Čěčková Martina

9. Postgraduální a 7. Postdoktorandská vědecká konference Farmaceutické fakulty UK, 23. – 24. 1. 2019, Hradec Králové

7. **„The contributive role of the placental ABCC1 in maternal and fetal protection. The case of maraviroc“**

Župová Lenka, Hirschmugl Birgit, Pilařová Veronika, Szekely Virag, Bakos Eva, Sucha Simona, Nováková Lucie, Štaud František, Laczka Csilla, Wadsack Christian, Čěčková Martina

10. Postgraduální a 8. Postdoktorandská vědecká konference Farmaceutické fakulty UK, 22. – 23. 1. 2020, Hradec Králové

8. **„Interplay of membrane transporters in placental handling of xenobiotics“**

Župová Lenka, Hirschmugl Birgit, Suchá Simona, Pilařová Veronika, Granitzer Sebastian, Nováková Lucie, Ellinger Isabella, Gundacker Claudia, Özvegy-Laczka Csilla, Wadsack Christian, Čěčková Martina

13th European Placental Perfusion Workshop, 16. 6. 2020, online konference organizovaná University of Southampton, United Kingdom

9.2 Posterové prezentace

1. **„Maraviroc does not inhibit ABC drug efflux transporters ABCB1 and ABCG2“**

Župová Lenka, Čěčková Martina, Štaud František

66. Česko-slovenské farmakologické dny, 13. – 15. 9. 2016, Brno

2. **„Transport of antiretroviral drug maraviroc across placental barrier“**

Župová Lenka, Čěčková Martina, Štaud František

BioMedical Transporters, 6. – 10. 8. 2017, Lausanne, Švýcarsko

3. „Interaction of antiretroviral drug maraviroc with ABC and SLC membrane transporters“

Ťupová Lenka, Čečková Martina, Štaud František

10th SFB35-Symposium, 5. – 9. 9. 2017, Vídeň, Rakousko

4. „Involvement of drug transporters in maraviroc transport across placental barrier“

Ťupová Lenka, Hirschmugl Birgit, Pilařová Veronika, Nováková Lucie, Wadsack Christian, Čečková Martina, Štaud František

SOLVO biotechnology, Meet the Experts Transporter Conference, 26. – 27. 4. 2018, Budapešť, Maďarsko

10 OCENĚNÍ

Pamětní grant Martiny Roeselové 2019 (pro rok 2020)

Nadační fond Martiny Roeselové finančně podporuje mladé vědce, kteří se zároveň starají o své děti předškolního věku, tak aby mohli přes rodičovské povinnosti zůstat dále aktivní ve vědě.

11 SEZNAM PŘÍLOH

P1. Etravirine inhibits ABCG2 drug transporter and affects transplacental passage of tenofovir disoproxil fumarate

Řezníček Josef, Čečková Martina, Ľupová Lenka, Štaud František

Placenta 2016, 47, p 124-129, IF_{2015/2016} = 2,972, Q1

P2. MDR1 and BCRP Transporter-Mediated Drug-Drug Interaction between Rilpivirine and Abacavir and Effect on Intestinal Absorption.

Řezníček Josef, Čečková Martina, Ptáčková Zuzana, Martinec Ondřej, Ľupová Lenka, Červený Lukáš, Štaud František

Antimicrobial Agents and Chemotherapy 2017, 61(9), IF_{2016/2017} = 4,302, Q1

P3. Interactions between Maraviroc and the ABCB1, ABCG2, and ABCC2 Transporters: An Important Role in Transplacental Pharmacokinetics

Ľupová Lenka, Čečková Martina, Ambrus Csilla, Sorf Ales, Ptackova Zuzana, Gaborik Zsuzanna, Štaud František

Drug Metabolism and Disposition 2019, 47(9), p 954-960, IF_{2018/2019} = 3,354, Q2

P4. Interplay of drug transporters P-glycoprotein (MDR1), MRP1, OATP1A2 and OATP1B3 in passage of maraviroc across human placenta

Ľupová Lenka, Hirschmugl Birgit, Suchá Simona, Pilařová Veronika, Székely Virág, Bakos Éva, Nováková Lucie, Wadsack Christian, Özvegy-Laczka Csilla, Čečková Martina

Biomedicine & Pharmacotherapy 2020, IF_{2019/2020} = 4,545, Q1

P5. In vitro function and in situ localization of Multidrug Resistance-associated Protein (MRP)1 (ABCC1) suggest a protective role against oxidative stress in the human placenta

Granitzer Sebastian, Ellinger Isabella, Khan Rumsha, Gelles Katharina, Widhalm Raimund, Hengstschläger Markus, Zeisler Harald, Desoye Gernot, Ľupová Lenka, Čečková Martina, Salzer Hans, Gundacker Claudia

Manuskript v revizním řízení časopisu Archives of Toxicology (červenec 2020), IF_{2019/2020} = 5,059

